

*Société A. N.° 1. H. F. u. f. 167<sup>2</sup> - 78<sup>2</sup> = 167*

N° D'ORDRE

~~320~~ 320.

# THÈSES

PRÉSENTÉES

## A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

JULES RAULIN



**1<sup>re</sup> THÈSE.** — ÉTUDES CHIMIQUES SUR LA VÉGÉTATION.

**2<sup>e</sup> THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le *22* ~~février~~ *juin* 1870 devant la Commission d'Examen.

MM. P. DESAINS,

*Président ;*

H. SAINTE-CLAIRE DEVILLE,  
TROOST,

} *Examineurs.*

PARIS

VICTOR MASSON ET FILS

PLACE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1870

# ACADÉMIE DE PARIS

## FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS.

<b>Doyen.</b> . . . . .	MILNE EDWARDS, Professeur.	Zoologie, Anatomie, Physiologie.
<b>Professeurs honoraires.</b> {	DUMAS. BALARD.	
<b>Professeurs.</b> . . . . .	DELAFOSSÉ . . . . .	Minéralogie.
	CHASLES . . . . .	Géométrie supérieure.
	LE VERRIER . . . . .	Astronomie.
	DUHAMEL . . . . .	Algèbre supérieure.
	LAMÉ . . . . .	Calcul des probabilités, Physique mathématique.
	DELAUNAY . . . . .	Mécanique physique.
	P. DESAINS . . . . .	Physique.
	LIOUVILLE . . . . .	Mécanique rationnelle.
	HÉBERT . . . . .	Géologie.
	PUISEUX . . . . .	Astronomie.
	DUCHARTRE . . . . .	Botanique.
	JAMIN . . . . .	Physique.
	SERRET . . . . .	Calcul différentiel et intégral.
	H. SAINTE-CLAIRE DEVILLE . . . . .	Chimie.
	PASTEUR . . . . .	Chimie.
LACAZE-DUTHIERS . . . . .	Anatomie, Physiologie comparée, Zoologie.	
BERT . . . . .	Physiologie.	
<b>Agrégés.</b> . . . . .	{ BERTRAND . . . . . } J. VIEILLE . . . . .	Sciences mathématiques.
	{ PELIGOT . . . . . }	Sciences physiques.
	<b>Secrétaire.</b> . . . . .	PHILIPPON.

A

**M. PASTEUR**

**Hommage de respectueuse affection.**

# PREMIÈRE THÈSE.

---

## ÉTUDES CHIMIQUES

sur la

# VÉGÉTATION

---

Si les organismes qui se forment dans les infusions de matières animales ou végétales excitent à un haut degré la curiosité des savants, ce n'est pas que ces petits êtres, dans le cercle étroit de leur vie rudimentaire, soient par eux-mêmes fort intéressants; c'est que leur développement se rattache, à un double point de vue, à la vie des êtres supérieurs.

D'une part, nous savons aujourd'hui que la vie de ces organismes infimes est liée nécessairement à ces transformations chimiques, variées à l'infini, que subissent les substances des végétaux et des animaux soustraites à l'action de la force vitale: c'est là une des lois fondamentales de la nature dont la découverte est due aux patientes et philosophiques études de M. Pasteur.

D'autre part, les êtres organisés les plus simples présentent, au point de vue chimique, des analogies fort remarquables avec les êtres vivants d'un ordre plus élevé, et contrairement à ces derniers, ils se prêtent avec une merveilleuse facilité aux investigations les plus délicates de la science; l'étude de ces petits êtres doit donc éclairer d'une vive lumière les questions les plus ardues de la physiologie générale: c'est là encore un côté nouveau de la science que M. Pasteur nous a révélé sans l'approfondir. Moi-même, désireux d'apporter quelques faits à l'appui de cette vue élevée, j'ai entrepris sur une Mucédinée spéciale les recherches chimiques qui font l'objet principal de ce Mémoire. Mais, afin de

rattacher mes résultats aux lois générales de la *Chimie des végétaux*, j'ai exposé au point de vue des Méthodes l'ensemble des découvertes de cette science.

Ce Mémoire se divise en deux parties :

*Première partie.* Progrès de la *Chimie des végétaux* considérée sous le rapport des méthodes.

*Deuxième partie.* Recherches sur le *Développement d'une Mucédinée* dans un milieu artificiel.



# PREMIÈRE PARTIE.

---

## PROGRÈS DE LA CHIMIE DES VÉGÉTAUX

### SOUS LE RAPPORT DES MÉTHODES

Au point de vue chimique, je diviserai les végétaux en deux catégories : les *grands végétaux* et les *végétaux microscopiques*.

L'histoire de la chimie de ces êtres nous intéresse principalement au point de vue des Méthodes ; j'ai cru pouvoir réduire à trois toutes celles qui ont servi jusqu'à ce jour à traiter les questions de chimie physiologique :

- La méthode analytique ;
- La méthode mixte ;
- La méthode synthétique.

Chacune de ces trois méthodes peut prétendre à résoudre avec des degrés de perfection divers tous les problèmes qui se rattachent à la chimie des végétaux ; mais chacune d'elles met en œuvre pour atteindre ce but des procédés différents.

La *méthode analytique* étudie les végétaux dans les conditions mêmes où la nature les a placés : elle demande à la composition chimique du sol, de l'atmosphère et des plantes le secret des phénomènes de la végétation ; en un mot, elle a pour point de départ l'analyse chimique.

Dans la *méthode synthétique*, on remplace le terrain naturel par un sol artificiel formé de composés chimiques définis, appropriés aux besoins du végétal qui doit s'y développer. C'est en faisant varier une à une les circonstances qui peuvent influencer sur la vé-

gétation, et en observant les effets qui en résultent, qu'on cherche à saisir tous les éléments du problème de la vie : la base de cette méthode, c'est la *synthèse*, qui doit incidemment s'aider de l'*analyse* comme d'un utile moyen de vérification.

La *méthode mixte* est intermédiaire entre les deux méthodes précédentes : on fait végéter la plante qu'on veut soumettre à l'étude dans un sol chimiquement identique avec les terrains naturels ; mais on dispose arbitrairement des circonstances secondaires de la végétation, telles que l'atmosphère, l'étendue du terrain, les substances chimiques qu'on peut y ajouter, les circonstances physiques, etc. : ici, l'observation et l'expérimentation se prêtent un mutuel appui.

Ces considérations déterminent l'ordre suivi dans la première partie de ce Mémoire : je passerai successivement en revue les travaux de chimie physiologique qui ont pour objet les *grands végétaux* et les *végétaux microscopiques*, et je les classerai d'après les méthodes scientifiques auxquelles ils appartiennent.

## CHAPITRE PREMIER.

### ÉTUDE DES GRANDS VÉGÉTAUX.

#### 1. — Méthode analytique.

La méthode analytique repose essentiellement sur la composition chimique des végétaux et avant tout sur celle de l'atmosphère et du sol où les végétaux puisent leurs éléments.

*Composition chimique de l'atmosphère et du sol.* — J'ai à peine besoin de rappeler que l'atmosphère est formée principalement d'oxygène et d'azote mêlés à de petites quantités d'acide carbonique et de vapeur d'eau, et que les terrains arables contiennent, outre l'eau et les gaz de l'atmosphère, les oxydes minéraux suivants :

Acide sulfurique, acide phosphorique, acide chlorhydrique, silice ;

Potasse, soude, chaux, magnésie, alumine, oxyde de fer, oxyde de manganèse ;

Et, en outre, de l'acide nitrique et de l'ammoniaque, et des matières organiques azotées en voie de décomposition qui constituent l'humus.

D'autres faits réclament ici notre attention.

D'une part, l'air paraît contenir des traces à peine appréciables de tous les éléments du sol, car on est parvenu à y découvrir :

L'ammoniaque, l'acide nitrique, un composé carboné et hydrogéné, des corpuscules organisés, des poussières diverses, un composé phosphoré, l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, la soude, la potasse, la chaux, la magnésie.

D'autre part, le sol arable renferme, en petites quantités, la plupart des corps simples connus ; il n'en est guère même, parmi les plus rares, qu'on y ait cherchés en vain par des procédés suffisamment précis. On a trouvé dans l'eau de mer l'iode et le brome. MM. Malaguti, Durocher et Sarzeaud ont isolé l'argent de l'eau de mer (1), M. Grandeau le rubidium des eaux de source (2). D'où viendraient ces éléments, sinon des terrains que ces eaux ont traversés ? Au reste, c'est presque toujours dans les eaux naturelles qui ont traversé le sol ou l'atmosphère, et non dans ces milieux eux-mêmes, qu'on a recherché ces éléments que je viens de signaler ; c'est là un procédé indirect d'une sensibilité pour ainsi dire indéfinie.

Au point de vue physiologique, il n'est pas permis de négliger ces corps simples dont il n'existe que des traces dans les milieux ambiants, et dont on peut ne pas tenir compte dans les réactions de la chimie minérale ; en effet, grâce à l'étendue illimitée de ces milieux, à la mobilité de leurs parties, à la durée de la vie des végétaux, les quantités les plus insaisissables d'un élément de l'air ou du sol peuvent, en s'accumulant, produire sur les végétaux des effets appréciables.

Le sol et l'atmosphère sont trop complexes pour qu'on puisse suivre directement toutes les transformations chimiques de leurs

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XXVIII, p. 129, et *Ann. sc. nat.*, 4<sup>e</sup> série, vol. IX, p. 222.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LX, p. 479.

éléments, transformations qui se rattachent à l'étude chimique de la végétation. Aussi, dans bien des cas, a-t-on eu recours à une méthode indirecte, qui consiste à mettre en présence quelques-uns des composés des milieux ambiants, à en étudier les réactions, pour les appliquer ensuite aux phénomènes de la nature. C'est dans cette vue que M. Kuhlmann, en 1838 (1), rechercha les conditions de la transformation de l'acide nitrique en ammoniaque, et de l'ammoniaque en acide nitrique; que M. P. Thenard, en 1857 (2), examina les circonstances de la production et de la décomposition de l'acide fumique; que M. Thenard et M. Dehérain (3) étudièrent la solubilité des phosphates en présence des éléments minéraux du sol. Cette méthode peut certainement jeter quelque lumière sur les réactions multiples du sol et de l'atmosphère; mais les conséquences auxquelles elle conduit ne reposant que sur des analogies lointaines, doivent toujours, pour être admises définitivement, être assujetties à de nombreuses vérifications.

*Composition élémentaire des végétaux.* — La connaissance de la constitution chimique des végétaux est liée aux progrès de l'analyse élémentaire. Tant qu'on chercha dans la distillation en vases clos le secret de la composition des corps organisés, on n'obtint que des résultats variables et complexes. Mais lorsque Lavoisier eut substitué à ce procédé celui de la combustion des matières organiques, lorsqu'il eut fixé la composition de l'eau et de l'acide carbonique, produits de cette combustion, la substance de tous les végétaux apparut comme un composé de trois éléments : carbone, hydrogène, oxygène. Bientôt Th. de Saussure retira de l'azote de plusieurs substances végétales: il émit l'opinion que ce corps simple existe en petite quantité dans tous les organes des végétaux, opinion confirmée par les analyses de Gay-Lussac, de MM. Boussingault et Payen, etc.

Les cendres que les végétaux laissent toujours en brûlant, en

(1) *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. XXIII, p. 1033.

(2) *Comptes rendus*, t. XLIV et suivants.

(3) *Recherches sur l'emploi agricole des phosphates*, Paris, 1862, et *Comptes rendus*, 1858, t. XLVII, p. 988.

faible proportion, ont été l'objet de nombreuses analyses ; on y rencontre normalement : l'acide phosphorique, l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, la silice ; la potasse, la soude, la magnésie, la chaux, l'oxyde de fer, l'oxyde de manganèse.

Mais ce qu'il faut remarquer de préférence, c'est que les cendres des végétaux doivent contenir des traces de tous les éléments du sol même les plus rares ; car les varechs fournissent à l'industrie l'iode et le brome ; Meissner a trouvé du cuivre, M. Grandeau du rubidium dans certains végétaux. MM. Malaguti, Durrocher et Sarzeaud ont décelé des traces d'argent dans les fucus ; MM. Bunsen et Kirchoff des traces de lithium dans la vigne et le tabac, etc.

Malgré cette complication apparente, les matières minérales des végétaux sont soumises à des lois fort remarquables.

Th. de Saussure (1) constata par l'expérience que la proportion de cendres contenue dans un même poids d'un végétal à l'état sec, augmente avec la richesse d'un terrain en matières salines ; qu'elle croît dans un même organe jusqu'au moment où la sève cesse d'y circuler ; qu'elle est plus forte dans les organes ou les végétaux herbacés que dans les parties ligneuses, résultats déjà entrevus par Perthuis en 1797 (2). Il présenta ces faits comme des résultats de la dissolution des sels dans les liquides, du mouvement des liquides dans le végétal, et de l'évaporation qui se produit à la surface. C'était reconnaître l'*influence prédominante de la nature physique des corps en présence sur l'absorption des sels par les végétaux* (3).

Berthier, vers 1826, reconnut que les cendres de bois de même espèce sont chimiquement semblables dans des terrains identiques ; mais que les cendres de diverses espèces de bois dans ces conditions diffèrent par les proportions de leurs éléments : c'é-

(1) *Recherches chimiques sur la végétation*, p. 272.

(2) *Annales de chimie*, t. XIX, p. 157.

(3) M. Dehérain a précisé ces résultats en montrant que la composition des cendres des végétaux s'explique parfaitement par les lois de l'évaporation des liquides, et celles de la diffusion des éléments minéraux en tenant compte de leur état de combinaisons dans l'organisme (*Annales des sciences naturelles*, 1867,).

*taît mettre hors de doute l'influence de l'espèce naturelle du végétal sur la composition des matières minérales qu'il renferme (1).*

En 1858, MM. Malaguti et Durocher recherchèrent comment les éléments inorganiques sont distribués dans les principales familles du règne végétal (2) : les proportions de chlore, de soufre, de sodium, de calcium, furent très-variables; tandis que le phosphore, le potassium, le magnésium, se montrèrent plus constants, soit dans les diverses familles du règne végétal, soit principalement dans une même famille; résultats conformes à ceux qu'a obtenus M. Peligot sur la répartition de la potasse et de la soude dans divers végétaux (3). Le travail de MM. Malaguti et Durocher se distingue par le soin que prirent ces deux observateurs de ne comparer que des végétaux de même nature physique, herbacés ou ligneux, dans des terrains analogues non modifiés par la culture.

On a également suivi la distribution des principes minéraux dans les organes d'une même plante. M. Payen, en 1837, vit l'azote s'accumuler dans les plus jeunes organes, dans les graines principalement. M. Boussingault remarqua que les matières végétales les plus azotées sont généralement plus riches en phosphore, observation que M. Corenwinder rendit plus nette en montrant que l'azote et le phosphore varient dans le même sens d'un organe à un autre. Mayer (4) précisa les relations de ces deux corps simples en prouvant que dans les graines d'une même espèce de plante, le rapport de l'azote au phosphore reste constant, tandis qu'il peut varier d'une espèce à une autre si la nature de la matière protéique vient à changer. M. Peligot constata que la magnésie avec l'azote et le phosphore s'accumule dans les graines de préférence à la chaux. Enfin, M. I. Pierre (5), dans ses intéressantes recherches sur le blé, généralisa et

(1) *Annales de chimie et de physique*, t. XXXII, p. 240, 1826.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LIV, p. 257.

(3) *Ann. sc. nat.*, 5<sup>e</sup> série, t. VIII, p. 245.

(4) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. I, p. 185.

(5) I. Pierre, *Recherches expérimentales sur le développement du blé et sur la répartition dans ses différentes parties des éléments qui le constituent à diverses époques de sa végétation*, 1866.

étendit ces résultats : il reconnut que l'azote, le phosphore, le potassium et même le magnésium contenus dans un certain poids de matière sèche diminuent en général avec l'âge dans un même organe, et vont en augmentant des organes inférieurs vers les organes supérieurs, principalement vers les graines ; tandis que le calcium, le fer, le silicium, le sodium, s'écartent de plus en plus de cette loi.

Le sens des résultats de MM. Malaguti et Durocher, Payen, Boussingault, Peligot, I. Pierre, paraît être celui-ci : l'azote, le phosphore, le potassium, le magnésium, s'accumulent avec une constance et une intensité remarquables dans les organes des plantes, surtout dans ceux où l'activité vitale prédomine ; le fer, le calcium, le sodium, le silicium, le soufre, le chlore, sont absorbés avec moins de force : *on voit donc intervenir ici dans la composition des cendres des végétaux l'influence de la nature chimique des éléments qui les composent.*

*Principes immédiats des végétaux.* — Parmi les composés définis que forment les éléments simples des végétaux, se placent au premier rang les composés ternaires qui constituent presque toute la masse des organes. Ceux de ces composés qui sont généralement répandus dans l'organisme des végétaux se divisent en trois classes : les substances neutres dont la composition peut être représentée par du carbone uni à de l'eau, telles que la cellulose, l'amidon, la dextrine, les sucres, etc. ; les acides qui contiennent en général du carbone, de l'eau et un excès d'oxygène, et qui sont ordinairement unis à des bases minérales. potasse, soude, chaux, etc., tels sont l'acide tartrique, l'acide citrique, l'acide malique, l'acide pectique, l'acide oxalique, etc. ; enfin les corps gras composés de carbone, d'eau et d'hydrogène en excès, principes très-abondants dans les graines oléagineuses, et dont MM. Dumas, Boussingault, Payen, ont démontré la présence en petite quantité dans tous les végétaux.

Parmi les composés quaternaires formés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote, nous nous bornerons à signaler la chlorophylle dont le rôle est si important, et les principes albu-

minoïdes qui sont répandus dans tout l'organisme des végétaux, et que MM. Liebig et Mülder regardent comme ayant pour base un même principe, la protéine, unie à de faibles proportions de phosphore et de soufre.

Parmi les recherches qui se rattachent à l'étude de la transformation des principes immédiats des végétaux les uns dans les autres, on peut citer : les observations de Bérard (1), de Corenwinder, de MM. Fremy, Buignet, Berthelot, sur les métamorphoses des principes sucrés, le travail de M. Fremy sur les substances pectiques, etc. Le procédé que l'on a généralement suivi dans ces sortes de recherches consiste à étudier les variations quantitatives que subissent avec le temps les principes immédiats d'un organe et à les comparer entre elles. Par exemple, si l'on voit deux composés varier constamment en sens inverse, il devient probable qu'ils se transforment l'un dans l'autre. Mais il est difficile de tenir compte de toutes les substances, souvent fort nombreuses, d'un même organe ; en outre les éléments qui passent continuellement d'un organe à un autre, de celui-ci au milieu ambiant ou inversement, échappent en partie à l'analyse. Aussi ce procédé, très-commode dans les cas simples, ne conduit plus dans les cas compliqués qu'à des conclusions probables, non certaines, à des résultats particuliers qu'on ne peut généraliser.

Pour connaître la nature des réactions d'où résultent ces transformations, on cherche à les produire artificiellement par le mélange de quelques-uns des principes immédiats qui sont en contact dans le végétal. C'est ainsi qu'on a reconnu le rôle de la diastase dans la transformation de l'amidon en sucre, de la pectase dans les métamorphoses des principes pectiques, etc. Mais ce procédé, efficace dans les cas simples, devient beaucoup plus incertain dans les cas compliqués, parce qu'il ne repose que sur des analogies incomplètes.

Le terme de ces études sera atteint lorsqu'on aura déterminé les transformations des principes immédiats des végétaux, non pas dans une partie plus ou moins étendue du végétal, mais dans

(1) *Annales de chimie et de physique*, t. XV, p. 225, 1821.

chacun de ses organes élémentaires : le procédé est encore celui dont je viens de parler, mais aidé par l'emploi simultané du microscope et des réactifs chimiques. Ce procédé est soumis aux restrictions générales que j'ai indiquées, mais il acquiert de nouvelles ressources pour pénétrer dans le mécanisme interne des phénomènes physiologiques. M. Payen en a obtenu des résultats inespérés dans une série de recherches analytiques commencées vers 1836 (1). Les propriétés de l'amidon, celles de la cellulose, qui est la base de tous les organes, la transformation des composés ternaires solubles en matière organisée sous l'influence de la matière azotée, l'étude des cristaux des feuilles, la constitution des fibres du bois, et comme conséquence pratique, l'explication des propriétés utiles des bois et des fibres textiles : tels sont les principaux objets des recherches de M. Payen qui prouvent la fécondité d'une méthode d'analyse à laquelle la physiologie doit bien d'autres découvertes (2).

Parmi de nombreuses recherches analytiques d'un mérite incontestable, je n'ai effleuré que celles qui se rattachent directement au problème principal que j'avais en vue : déterminer la part exacte que prend au développement d'un végétal chacun des éléments chimiques qui l'entourent.

*Des corps simples essentiels à la formation des végétaux.* — Dans ce but on doit rechercher avant tout quels sont les corps simples utiles ou nécessaires à la formation d'un végétal. Ce serait une erreur de croire que ces éléments ne sont autres que ceux mêmes dont l'analyse révèle l'existence dans le végétal ; car un élément peut servir à transformer certaines substances de l'air ou du sol dans un sens favorable à la vie de ce végétal, sans que cette propriété soit en relation avec l'absorption de cet élément

(1) *Comptes rendus*, 1836, t. III et suivants. Voyez aussi les *Annales des sciences naturelles*, 2<sup>e</sup> série, t. X, p. 5, 65, 161, et t. XI, p. 21.

(2) On peut citer encore dans cet ordre d'études : les recherches de M. Fremy sur la composition des cellules végétales (*Annales des sciences naturelles*, 4<sup>e</sup> série, t. XII, p. 320).

par l'organisme, et inversement un corps simple peut être absorbé par un végétal sans lui être utile, puisque les plantes, nous l'avons vu, absorbent à peu près toutes les substances solubles qui les entourent. Cependant l'analyse du végétal peut nous éclairer sur cette question. Ainsi personne ne conteste la nécessité du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène dans l'acte de la végétation, parce que l'organisme est presque entièrement formé des composés de ces corps. L'azote, parce qu'il entre en proportions définies dans les substances albumineuses répandues dans toutes les parties du végétal, surtout dans les organes en voie de formation, peut être regardé comme un élément essentiel à la vie. Mais l'analyse ne prouve pas absolument que l'albumine, dont la proportion est toujours assez faible, soit indispensable à la formation des végétaux.

Cette remarque s'applique à plus forte raison au phosphore et au soufre combinés, peut-être même mélangés en petite proportion aux matières protéiques. L'azote, le phosphore, le potassium, le magnésium, nous l'avons vu, cheminent ensemble avec plus d'activité que les autres corps simples vers les organes essentiels à la vie; indice sérieux de l'importance physiologique de ces éléments. Cependant ce phénomène est peut-être le résultat naturel de quelque propriété physique ou chimique des composés de ces éléments tout à fait indépendante de leur action sur le végétal. M. Liebig (1) regarde les alcalis et les terres comme indispensables pour neutraliser les acides organiques du végétal, et comme capables de se substituer les uns aux autres. Mais ces acides eux-mêmes sont-ils nécessaires à la vie? En l'absence des bases ne seraient-ils pas remplacés naturellement par d'autres produits neutres sans que la vie en fût troublée? Au reste, l'expérience directe n'est pas favorable à l'hypothèse de M. Liebig. On peut encore tirer de curieuses inductions de la composition des terrains qui ont une flore spéciale. Si les varechs ne se rencontrent que dans la mer, n'est-ce pas parce qu'ils

(1) Liebig, *Chimie organique appliquée à la physiologie végétale et à l'agriculture*, p. 95 et suivantes.

ont besoin de sodium ? Si, comme l'a remarqué M. Unger, la flore naturelle dans une même contrée change lorsqu'on passe d'un terrain calcaire à des terrains qui ont pour base le gypse ou l'argile, peut-être faut-il attribuer ce fait à la préférence de certaines espèces pour le calcium, le soufre, le silicium ou l'aluminium. Mais on ne saurait affirmer sûrement que cette influence des terrains est due aux éléments que j'ai signalés, plutôt qu'à tant d'autres circonstances qui peuvent nous échapper. Au reste, à toutes ces preuves en faveur de l'utilité de certains éléments minéraux dans l'acte de la végétation, on peut objecter qu'il est singulier que ces éléments, s'ils sont réellement utiles, se rencontrent dans les végétaux en aussi faibles proportions.

*De l'origine des corps simples essentiels aux végétaux.* — Il est très-important de connaître les composés de l'air et du sol qui fournissent les corps simples essentiels aux végétaux. Avant qu'on eût acquis des idées exactes sur la composition des minéraux, des chimistes soutinrent que tous les principes des végétaux, même les cendres, se forment sous l'influence de la vie à même la substance de l'air et de l'eau : l'abondance dans certaines plantes de la silice, dont les composés naturels sont ordinairement peu solubles, servait de fondement à cette opinion. Lorsque les découvertes de la chimie minérale eurent mis à néant cette fiction et démontré que le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, constituent presque toute la masse des végétaux, on rechercha avec empressement l'origine de ces éléments. Les uns pensaient que l'humus les cède directement aux plantes. Tillet, Parmentier, etc. (1), s'appuyant sur la faible solubilité des matières des sols fertiles, attribuaient à l'air et à l'eau l'origine de ces trois éléments. M. Liebig (2) s'appuya sur des chiffres pour prouver que la partie soluble de l'humus ne suffit pas à produire toute la matière organique des récoltes et affirma qu'une portion des

(1) *Annales de chimie*, 1791, t. XI, p. 278.

(2) Liebig, *Chimie organique appliquée*, etc., p. 10.

composés ternaires des végétaux tirent leurs éléments de l'acide carbonique et de l'eau. M. Liebig (1) a également calculé que les végétaux contiennent plus d'azote que le sol ne leur en fournit, et il en a conclu qu'une portion de l'azote des végétaux est puisée dans l'air. M. G. Ville (2) a même établi par des nombres que l'azote des récoltes surpasse celui qu'elles tirent du sol et celui des composés azotés de l'air, et que par conséquent une partie de l'azote des végétaux vient de l'azote libre de l'atmosphère.

Les preuves analytiques sur lesquelles s'appuient ces assertions manquent de solidité : souvent on s'est contenté de rassembler quelques nombres pris dans les expériences les plus hétérogènes, pour en composer une expérience fictive sur les conclusions de laquelle il est certainement permis de conserver plus d'un doute. En outre il est bien difficile d'apprécier ce que peut emprunter un végétal à tel ou tel composé du milieu ambiant, à cause de l'étendue illimitée de ce milieu, de la mobilité de ses éléments et des réactions qui s'y accomplissent continuellement. Ces considérations s'appliquent sans restriction à l'origine des principes minéraux des plantes. MM. Thenard et G. Ville ont cependant fondé sur l'analyse deux classifications des éléments du sol qui paraissent donner la solution du problème qui nous occupe. M. P. Thenard distingue dans le sol : les agents assimilables, les agents conservateurs, les agents assimilateurs (3). M. G. Ville divise les éléments du sol en éléments mécaniques, éléments assimilables actifs, éléments assimilables en réserve (4).

Quels sont donc les principes que MM. Thenard et Ville appellent assimilables ? Ce sont ceux qui contiennent des corps simples dont l'analyse a décelé l'existence dans les végétaux, et qui peuvent dans des circonstances convenables devenir solubles. Or ces conditions sont, nous l'avons démontré, insuffisantes pour établir que ces principes participent activement au développement des végétaux.

(1) Liebig, *Chimie organique appliquée*, p. 72 et suivantes.

(2) *Comptes rendus*, t. XXXVIII, p. 705.

(3) *Comptes rendus*, t. XLVIII, p. 385.

(4) *Comptes rendus*, t. XLVIII, p. 589.

*Du rôle des corps simples qui interviennent utilement dans la végétation.* — Pour déterminer le rôle de chacun des corps simples dont nous avons parlé dans le développement d'un végétal, il faut suivre toutes les transformations chimiques que subissent ces éléments depuis les composés du sol et de l'air qui les fournissent jusqu'à ceux qu'ils forment définitivement dans le végétal ou en dehors de lui.

Nous l'avons vu, l'analyse est parvenue à saisir des traces extrêmement petites des composés sans nombre qui constituent le sol et l'atmosphère. Elle peut nous éclairer sur quelques-unes des transformations de ces substances, mais elle ne nous a pas offert de procédé général qui puisse sûrement nous en révéler toutes les modifications. A plus forte raison, la transformation des composés de l'air et du sol en principes immédiats des végétaux échappe généralement aux procédés analytiques; mais ce que l'analyse saisit avec sûreté jusque dans les nuances les plus délicates, ce sont ces principes immédiats eux-mêmes : c'est ainsi qu'elle nous apprend que le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, forment les composés les plus divers qui constituent presque toute la masse des végétaux; que l'azote entre dans les composés quaternaires dont les proportions sont assez minimes, bien qu'ils ne manquent jamais dans l'organisme; qu'enfin certains éléments minéraux paraissent appartenir à des composés des végétaux dont la nature et le rôle sont moins bien déterminés. L'analyse a abordé dans des cas particuliers le problème de la transformation de ces principes immédiats les uns dans les autres dans les diverses parties du végétal, sans conduire par une voie sûre à une solution générale et complète du problème qu'elle ne comporte pas. Elle a recherché également dans beaucoup de cas ces transformations dans les organes élémentaires, et a ainsi déterminé la part que prennent les principes immédiats les plus essentiels au développement de ces organes. Elle a suivi la transformation des composés ternaires solubles dans les principes qui constituent les cellules simples ou modifiées. L'intervention de la matière azotée et peut-être aussi de certains principes minéraux dans la formation des

organes nouveaux; en un mot, elle a déjà fait apparaître en partie le mécanisme de l'organisation de la matière.

*Résultats généraux de la méthode.* — Il suffit de jeter un coup d'œil sur l'ensemble des faits qui précèdent pour se convaincre que la méthode analytique a produit ses principales découvertes dans les quarante années qui suivirent l'époque de Lavoisier, époque des découvertes fondamentales de la chimie minérale.

Cette méthode a démontré que les végétaux exigent pour se développer un certain nombre de corps simples qui sont principalement le carbone, l'hydrogène, l'oxygène; très-probablement l'azote en faible quantité; que de très-petites proportions de phosphore, de soufre, de potassium, de magnésium, etc., sont peut-être également utiles à l'organisation de la matière.

Sans déterminer complètement le rôle de chacun de ces éléments dans le développement des végétaux, l'analyse nous a fait connaître les combinaisons diverses du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène qui constituent presque toute la masse des végétaux; elle en a suivi les transformations jusque dans les organes élémentaires dont elles fournissent les matériaux; elle nous a appris que les matières azotées président partout à la formation des organes; qu'enfin les éléments minéraux appartiennent peut-être à des composés indéterminés, utiles au développement de ces organes.

D'ailleurs cette méthode n'a pu établir que des hypothèses sans preuves réelles sur l'origine de ces éléments.

Si donc la méthode analytique nous a révélé un certain nombre de faits intéressants sur la constitution des végétaux, elle paraît par elle-même tout à fait insuffisante à fonder une théorie chimique de la végétation.

## II. — Méthode mixte.

A la méthode mixte se rattachent toutes les expériences de chimie végétale dans lesquelles on s'est servi d'un sol naturel tout en disposant arbitrairement de quelques-unes des circonstances essentielles de la végétation.

*De l'influence favorable de certains composés définis sur la végétation.* — J'examinerai principalement l'influence qu'exercent sur la végétation certaines substances chimiques définies lorsqu'on les ajoute au terrain : c'est de toutes les questions traitées par la méthode mixte la plus intéressante.

Le nombre des essais isolés qui ont été faits dans cette direction est considérable, je n'en citerai que quelques-uns : Davy trouva que la magnésie est tantôt utile, tantôt funeste aux végétaux. Digby, en ajoutant du nitre au terrain, obtint une belle récolte d'orge. Home remarqua les bons effets du sulfate de potasse sur certains végétaux. Einhoff vit l'acide nitrique étendu donner de la vigueur à un champ de luzerne; il n'obtint aucun résultat de l'acide sulfurique et de quelques oxydes métalliques que de Humboldt avait indiqués comme utiles à la végétation (1). M. Bouchardat vit les sels ammoniacaux rester inactifs sur des Pommes de terre plantées dans une terre fertile (2). E. Gris fit reverdir des plantes chlorosées à l'aide du sulfate de fer (3), etc., etc. Ces faits épars, souvent contradictoires, observés dans des conditions mal déterminées, sans mesures numériques, sans termes de comparaison, ne présentent au point de vue scientifique qu'un médiocre intérêt. En voici la raison : l'effet d'un sel sur une culture peut dépendre non-seulement de la nature du sel, mais aussi de la quantité de sel employé, de l'espèce du végétal, de la constitution du sol, etc.; c'est-à-dire qu'il peut être très-variable, et qu'on ne saurait tirer d'essais sans suites aucune conclusion générale.

Des expériences conduites avec méthode offrent seules un intérêt réel; Davy en avait compris toute la portée; mais ses résultats ne peuvent qu'en faire ressortir les difficultés (4). En 1807 il essaya sur diverses cultures plusieurs sels de potasse et d'ammoniaque : les sulfates et les azotates furent à peu près inactifs; les acétates et principalement les carbonates donnèrent

(1) Davy, *Éléments de chimie appliquée à l'agriculture*, p. 319, etc.

(2) *Comptes rendus*, t. XXI, p. 636.

(3) *Comptes rendus*, t. XIX, p. 1118.

(4) Davy, *Éléments de chimie appliquée à l'agriculture*, p. 350.

à la végétation plus de vigueur. Comment interpréter ces résultats? Devait-on attribuer les bons effets des acétates et des carbonates à la tendance alcaline de ces composés, et l'inactivité des nitrates et des sulfates à l'état neutre de ces sels? Ou bien devait-on croire que la potasse et l'ammoniaque exercent sur la végétation une influence favorable qui appartient en propre à leurs éléments, et que l'action corrosive de l'acide sulfurique et de l'acide nitrique peut contre-balancer? Évidemment le côté important du problème restait dans l'ombre.

Aussi, si les expériences que je vais rapporter ont enrichi la science de résultats concordants, décisifs, le mérite en revient aux expérimentateurs qui n'ont rien épargné pour se mettre à l'abri des nombreuses causes d'erreur inhérentes au procédé lui-même : ils ont choisi des parcelles de terrain de nature semblable et ménagé çà et là des parcelles sans engrais destinées à servir de termes de comparaison ; ils ont pesé les substances ajoutées au sol et les récoltes ; ils ont multiplié les essais en les variant.

Les premières recherches de ce genre qui conduisirent à des résultats définitifs sont dues à M. Kuhlmann (1). Dans une série d'expériences commencées en 1841 et poursuivies pendant plusieurs années, il essaya sur des parcelles égales de prairies naturelles les composés suivants employés à égales quantités d'azote : chlorhydrate d'ammoniaque, sulfate d'ammoniaque, nitrate de soude, nitrate de chaux, eau ammoniacale des usines à gaz, gélatine, gluten.

Toutes ces substances accrurent notablement le poids des récoltes, résultat qui ne pouvait être attribué qu'à l'azote, élément commun à tous ces composés d'ailleurs si différents : au reste, les effets incomparablement moindres, produits par des sels ou des substances organiques sans azote levèrent toute incertitude à cet égard.

En 1843, M. Schattenmann compléta ces études en appliquant

(1) *Comptes rendus*, 1843, t. XVII, p. 1118.

les sels ammoniacaux en proportions diverses aux principales cultures agricoles (1).

En Angleterre, à partir de 1842, Lintoch, Fleming, Main et d'autres expérimentateurs essayèrent les effets des sels ammoniacaux et des nitrates sur le Blé, l'Avoine, le Turneps, et ils obtinrent généralement des résultats conformes aux précédents (2).

Divers expérimentateurs ont constaté que certains sels minéraux exercent sur les cultures agricoles une influence moindre que celle des matières azotées, mais très-appreciable.

Dès 1843, M. Lawes, en Angleterre, étudia l'action des phosphates, principalement du phosphate de chaux sous diverses formes, sur la culture du Blé, du Turneps, etc., et il obtint par l'addition de ces sels, seuls ou avec un engrais azoté, des excédants de récoltes fort appréciables. En 1845 et 1846, M. Kuhlmann constata que les phosphates exercent des effets de même ordre sur les prairies naturelles (3) : et, en 1852, M. Chatin reconnut que l'acide phosphorique se place au premier rang des oxydes utiles à la culture des Pommes de terre.

M. I. Pierre (4), de 1850 à 1852, démontra l'efficacité de l'acide sulfurique dans la végétation des légumineuses par des essais comparatifs avec des sulfates à bases diverses.

M. Chatin, dans des essais qu'il fit en 1852 sur les Pommes de terre, distingua la potasse et la chaux comme les plus efficaces des bases minérales (5).

MM. Lawes et Gilbert ont repris tous ces essais en commun sur une vaste échelle; ils ont appliqué à diverses cultures différents sels, seuls ou mélangés, et ils ont principalement envisagé les résultats dans leurs rapports avec la pratique.

*Application de la méthode mixte.* — Parmi les applications de la méthode mixte, on doit citer en première ligne l'usage des

(1) *Comptes rendus*, 1843, t. XVII, p. 1128.

(2) *Experimental agriculture, etc.*, by James F. W. Johnston.

(3) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XX, p. 265, 1847.

(4) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XXXVI, p. 61, 1852.

(5) *Comptes rendus*, t. XXXV, p. 786, 1852.

amendements, des engrais, des assolements, qui constituent la partie chimique de la pratique agricole : car ce sont là autant d'influences sur le développement des végétaux dans un sol naturel dont le praticien dispose à son gré. Par les engrais, par les amendements, il augmente les récoltes en ajoutant au sol, soit des matières d'origine animale ou végétale, soit des substances minérales telles que les cendres des végétaux, la chaux, la craie, l'argile, la poudre d'os, le plâtre, etc. Par les assolements, il fait un choix convenable des espèces qui doivent se succéder sur une même terre afin d'utiliser le plus fructueusement tous les principes fertilisants des engrais.

Tant qu'on a cherché l'explication de l'influence sur la végétation des amendements, des engrais, des assolements dans les faits pratiques ou les résultats de l'analyse, on n'a inventé que des hypothèses plus ou moins vraisemblables, sans fonder une théorie certaine et complète.

Que d'opinions n'a-t-on pas émises sur le mode d'action des amendements? Prenons le plâtre pour exemple et laissons de côté les idées anciennes qui n'ont plus cours dans la science. Devons-nous croire avec M. Liebig que le plâtre ait pour objet la fixation des sels ammoniacaux (1) ou avec M. Dehérain qu'il serve à rendre la potasse du sol plus soluble, par suite plus assimilable (2)? Ou bien faut-il nous ranger à l'opinion de Davy qui pensait que le plâtre entre par ses éléments dans la constitution des végétaux. Mais alors est-ce le soufre, le calcium ou bien l'un et l'autre qu'il faut ~~considérer~~ comme essentiels? Toutes ces hypothèses sont possibles parce qu'elles reposent sur des faits réels; mais aucune d'elles n'est véritablement démontrée.

Les engrais organiques donnent lieu à des remarques analogues. Parmentier ne leur attribuait que le rôle de condenser les éléments de l'air et de l'eau nécessaires à la végétation. Davy (3) pensait qu'ils fournissent aux végétaux les éléments de leur

(1) Liebig, *Chimie organique, etc.*, p, 88.

(2) *Annales des sciences naturelles*, 4<sup>e</sup> série, 1862, et *Annales du Conservatoire des arts et métiers*, 1865.

(3) Davy, *Éléments de chimie appliquée à l'agriculture*.

propre substance. M. Liebig posait en principe que les éléments minéraux du fumier sont les seuls qui aient une importance capitale (1). M. Boussingault contribua puissamment à faire triompher cette opinion, que, dans les engrais, l'azote doit être estimé en première ligne, principalement l'azote à l'état d'ammoniacque, et que les substances minérales phosphatées ont une moindre importance.

Ce principe s'appuyait à l'origine sur les observations d'Herbstœd qui démontra que les engrais les plus azotés donnent les céréales les plus riches en gluten; sur celles de Thaer qui indiqua les engrais les plus azotés comme les plus actifs, et sur celles de Davy qui remarqua que les engrais très-chargés d'ammoniacque impriment à la végétation une vigueur extraordinaire.

Ces faits prouvaient simplement que le dosage de l'azote, principalement à l'état d'ammoniacque, donne en général la mesure de la valeur agricole d'un engrais. Mais ils pouvaient fort bien s'expliquer par l'action de quelque composé en relation constante dans les engrais avec la matière azotée. Ainsi ils ne démontraient pas l'efficacité des composés de l'azote, en particulier de l'ammoniacque sur la végétation, ils la faisaient seulement pressentir. Ils ne constituaient donc pas la base d'une théorie.

J'en dirai autant des assolements dont l'usage repose sur ce fait d'observation : une terre qui a fourni une ample moisson d'un végétal pourra être épuisée pour ce végétal, et donner cependant une abondante récolte d'une autre espèce convenablement choisie. Davy expliquait ce remarquable phénomène par la diversité des éléments que des plantes d'espèces différentes empruntent aux engrais; Liebig l'attribuait spécialement aux éléments minéraux du sol que les plantes absorbent inégalement (2); M. Boussingault, à l'azote que certains végétaux empruntent au sol, d'autres à l'atmosphère (3). Ces diverses opinions s'appuyaient sur des faits réels; mais il eût fallu démontrer qu'ils étaient en relation avec le phénomène observé.

(1) Liebig, *Chimie organique appliquée, etc.*, p. 94 et suivantes.

(2) Liebig, *Chimie appliquée*, p. 161.

(3) *Annales de chimie et de physique*, 1841, t. I, p. 208.

La méthode mixte nous découvre la marche à suivre pour décider entre toutes ces hypothèses, et fonder sur une base sûre la théorie chimique de la pratique agricole : en essayant sur une culture déterminée l'action de chaque composé défini dont se compose un engrais ou un amendement, on appréciera avec certitude la part d'influence qui revient à chacun d'eux. De même en recherchant quels sont les principes des engrais qui rendent un sol, épuisé par une espèce de plante, fertile pour cette même espèce, on reconnaîtra quels sont les éléments dont l'absence amène la stérilité. Ces questions, en apparence si complexes, se résument donc dans les expériences rationnelles de la méthode mixte sur l'influence des *composés chimiques définis* dans la végétation. Par exemple, il résulte des expériences que j'ai rapportées précédemment, que l'activité du noir animal, de la poudre d'os, tient principalement à l'acide phosphorique ; que la matière azotée a le plus d'importance dans les engrais organiques ; que l'acide phosphorique y joue également un certain rôle, etc.

Il y a plus : les expériences dont je parle ont été faites, surtout en Angleterre, dans un but pratique ; on a cherché à suppléer à l'insuffisance des engrais naturels par des mélanges de sels chimiques (engrais chimiques) appropriés aux végétaux.

En rendant ainsi au sol tous les éléments de fertilité *nécessaires* à chaque espèce de végétal et rien de plus, on peut obtenir des récoltes très-abondantes en utilisant toutes les parties de l'engrais. On peut aussi s'affranchir plus ou moins de la nécessité des assolements, puisqu'on communique à un terrain une fertilité très-grande pour une espèce quelconque sans rien perdre de l'engrais employé. Au point de vue de la culture il y a là certainement un progrès ; mais au point de vue économique, la question est plus complexe : lorsque, comme en Angleterre, on a besoin, à quelque prix que ce soit, d'obtenir des cultures intensives, les engrais chimiques peuvent rendre de grands services, je n'y contredis point. Mais je doute fort qu'ils puissent être généralisés avec avantage. Je me demande si, en principe, il est rationnel d'extraire à grands frais certains sels chimiques des ma-

tières premières de la nature ou des résidus industriels de toute espèce, pour les offrir ainsi préparés aux végétaux, alors que ceux-ci ont la merveilleuse propriété d'extraire eux-mêmes ces sels des mélanges les plus complexes. L'industrie me paraît inspirée d'idées plus vraies lorsque, suivant une voie inverse, elle utilise les végétaux pour faire une première sélection parmi les sels multiples des terrains, et isoler ensuite dans les cendres de ces végétaux les sels définis dont elle a besoin.

*Résultats généraux de la méthode mixte.* — Les progrès que la chimie des grands végétaux doit à la méthode mixte peuvent se résumer par les propositions suivantes :

Les expériences rationnelles de cette méthode ont mis hors de doute l'influence favorable qu'exercent sur le développement des végétaux certains composés chimiques définis ajoutés au sol : divers composés azotés tels que les nitrates, les sels ammoniacaux, les composés organiques de l'azote ; les phosphates, les sulfates, les sels de potasse, etc. ; résultats sur lesquels l'analyse ou les faits pratiques ne donnent que des aperçus très-incomplets.

Ces mêmes expériences nous apprennent que les effets physiologiques de ces composés sont dus respectivement à l'azote, à l'acide phosphorique, à l'acide sulfurique, à la potasse, etc.

Elles ne nous donnent aucune indication directe sur le rôle de ces éléments.

Mais nous ne pouvons nous empêcher de remarquer que ces résultats se relient à ceux de la méthode analytique : vraisemblablement l'azote, l'acide phosphorique, la potasse, l'acide sulfurique dont la méthode mixte constate l'efficacité, servent à fournir aux plantes l'azote, le phosphore, le potassium, le soufre, qui paraissent, d'après les résultats de l'analyse, contribuer avec le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, à la formation des organes des végétaux.

Enfin la méthode mixte donne à la théorie des engrais, des amendements et des assolements une base solide, en même temps qu'elle conduit à une modification importante de la pratique agricole.

La méthode mixte, aidée de l'analyse qui en fait essentiellement partie, est donc plus féconde que la méthode analytique proprement dite. Aussi lui est-elle postérieure, car c'est de 1840 à 1850 qu'elle a acquis tout son développement.

En résumé, les deux méthodes précédentes ont déjà tracé quelques traits de la théorie chimique de la végétation, et pourtant on sent combien cette esquisse est encore vague et incomplète, précisément dans les parties les plus essentielles.

### III. — Méthode synthétique.

Existe-t-il un milieu formé de composés chimiques définis dans lequel un végétal puisse se développer? Telle est la question sur laquelle repose la méthode synthétique tout entière.

*Possibilité du développement des végétaux dans un milieu artificiel formé des éléments de l'air et de l'eau.* — Les faits les plus vulgaires, la germination des graines à l'humidité, la conservation des fleurs par l'eau, ont dû donner naissance à cette hypothèse, que peut-être l'air et l'eau suffiraient au développement des plantes. Cette vue parut confirmée par les expériences de Duhamel (1), d'Ingenhousz (2), de Tillet (3), qui firent pousser des végétaux dans des milieux formés uniquement par l'air et par l'eau. Cependant Duhamel et Ingenhousz avaient employé de la mousse ou du liège pour fixer leurs plantes; Tillet avait enterré dans le sol les vases poreux dont il se servait : les végétaux avaient donc peut-être puisé leur nourriture dans les matières organiques de la mousse, du liège ou du sol. Hassenfratz (4) répondit à cette objection par quelques expériences mieux conçues : dans des vases de verre, il fit germer des graines maintenues à la surface de l'eau dans de petits entonnoirs ou sur des

(1) *Mémoires de l'Académie des sciences*, 1748, p. 272.

(2) Ingenhousz, *Expériences sur les végétaux*, p. 387.

(3) *Mémoires de l'Académie des sciences*, 1772, p. 99.

(4) *Annales de chimie*, t. XIII, p. 179.

films métalliques, et il obtint des plantes rudimentaires qui allèrent jusqu'à donner des feuilles et des fleurs. Ces plantes s'étaient en réalité développées uniquement dans l'air et dans l'eau. Mais la matière des graines n'avait-elle fait qu'accroître son volume et changer de forme sans augmenter de poids, ou bien s'était-il produit réellement de la matière organisée aux dépens de l'air et de l'eau? C'est ce point resté obscur que Th. de Saussure (1) réussit à élucider : il sema des graines dans du sable ou dans d'autres sols inertes contenus dans des vases de verre, les arrosa avec de l'eau pure, et obtint des plantes, qui, à l'état sec, pesèrent plus que les graines et fournirent plus de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Le fait de la production de matière organisée par les substances de l'air et de l'eau était désormais incontestable.

Ce principe une fois établi nous conduit naturellement à rechercher quels sont parmi les corps simples ou composés de l'air et de l'eau ceux qui participent nécessairement au développement des végétaux : on voit sans peine que la solution de ce problème se trouve dans la suppression successive de chacun des éléments de l'air et de l'eau et dans la mesure des effets produits sur le végétal par cette modification.

*Des éléments de l'air et de l'eau essentiels à la végétation.* — L'absolue nécessité de l'eau dans la végétation des plantes est trop connue pour que j'aie besoin de m'y arrêter.

Ingenhousz (2) établit que l'oxygène de l'air est un élément essentiel à la végétation : car des graines privées d'oxygène ne germèrent point, et des plantes déjà développées périrent promptement à l'obscurité, moins vite à la lumière, dans des gaz dépouillés d'oxygène. Mais c'est de Saussure qui précisa jusqu'à quel point cet élément est nécessaire à la vie des plantes : il démontra que les parties vertes des végétaux peuvent s'en passer à la lumière ; que les parties vertes à l'obscurité, et les autres

(1) Th. de Saussure, *Recherches chimiques sur la végétation*, p. 39 et 225.

(2) Ingenhousz, *Expériences sur les végétaux*.

parties dans toutes les circonstances en ont absolument besoin, et qu'une plante entièrement privée de ce gaz périt plus ou moins promptement, même à la lumière.

Priestley (1) n'obtint sur l'action de l'acide carbonique dans la végétation, que des résultats contradictoires : il vit ce gaz nuire souvent et quelquefois aider au développement des végétaux. Néanmoins la singularité même de ces faits attira l'attention des physiologistes, et Senebier, tout en reconnaissant qu'une trop forte proportion d'acide carbonique est nuisible aux plantes, pressentit, d'après ses propres expériences, qu'une petite quantité de ce gaz leur est utile. Mais c'est encore de Saussure (2) qui détermina exactement la loi des effets de ce gaz sur les végétaux ; il constata qu'à l'ombre la moindre quantité d'acide carbonique retarde la végétation ; qu'à la lumière, si un excès de ce gaz est nuisible, une petite quantité active singulièrement les progrès de la végétation ; et même il fit cette importante observation, qu'un végétal n'augmente réellement de poids qu'autant qu'il vit partiellement à la lumière et dans l'acide carbonique.

L'azote de l'air n'est pas indispensable à la vie des plantes : M. Ch. Mène et divers expérimentateurs ont pu le supprimer et le remplacer par d'autres gaz inertes, sans que la végétation ait paru en souffrir.

Mais il ne suffit pas de connaître les éléments du milieu extérieur utiles à la vie des plantes ; il importe encore d'en rechercher avec soin les transformations chimiques, afin de déterminer le rôle de chacun d'eux.

*Étude par la méthode directe des transformations des éléments de l'air par les végétaux, ou étude de la respiration.* — Les modifications chimiques que les végétaux font subir à l'atmosphère constituent le phénomène chimique de la respiration des plantes ; les travaux qui s'y rattachent sont considérables ; je me contenterai de les examiner rapidement dans leur ensemble.

(1) Priestley, *Expériences et observations sur différentes espèces d'air*.

(2) De Saussure, *Recherches chimiques sur la végétation*, p. 27.

Vers le milieu du xviii<sup>e</sup> siècle, Bonnet observa que des feuilles plongées dans l'eau, au soleil, se couvrent de bulles de gaz. Priestley (1) remarqua que les végétaux tantôt améliorent, et tantôt gâtent davantage l'air vicié par la respiration des animaux. Ces faits isolés appelèrent l'attention des savants, et bientôt Ingenhousz (2) et Senebier (3) découvrirent la loi générale de la respiration des plantes : Ingenhousz démontra que les végétaux à l'ombre absorbent l'oxygène de l'air, et dégagent de l'acide carbonique, et que ce phénomène, loin d'être le résultat d'une altération des végétaux, est lié à leur développement. Il prouva également que les plantes, sous l'influence de la lumière, dégagent de l'oxygène de leurs parties vertes, et Senebier compléta cette découverte en y ajoutant le fait de l'absorption de l'acide carbonique, corrélativement au dégagement de l'oxygène.

Cependant il restait à étudier les circonstances essentielles du phénomène de la respiration : c'est ce travail qu'entreprit Th. de Saussure (4). Avant tout il s'assura que le dégagement de l'acide carbonique à l'obscurité, comme aussi l'absorption de ce gaz au soleil, sont des phénomènes essentiels à la vie, en relation avec l'absorption et le dégagement de l'oxygène, proposition qui soulevait encore bien des contestations. Alors il suivit dans différents cas ces variations de l'acide carbonique et de l'oxygène, et il eut soin de les mesurer avec toute l'exactitude possible. Il établit que les feuilles ordinaires, à la lumière, absorbent de l'acide carbonique, qu'elles remplacent par un volume un peu moindre d'oxygène; qu'à l'obscurité elles absorbent de l'oxygène et dégagent un égal volume d'acide carbonique. Il démontra encore que les organes privés de matière verte respirent en tout temps comme les feuilles pendant la nuit. C'est à ces cas simples qu'il rattacha tous les autres : la respiration des organes verts charnus (fruits et feuilles charnues); la respiration totale des feuilles placées pendant plusieurs jours et plusieurs nuits dans

(1) Priestley, *Expériences et observations sur différentes espèces d'air.*

(2) Ingenhousz, *Expériences sur les végétaux.*

(3) Senebier, *Expériences sur l'action de la lumière solaire dans la végétation.*

(4) Th. de Saussure, *Recherches chimiques sur la végétation.*

un mélange d'acide carbonique et d'oxygène non renouvelés ; la respiration des plantes vertes dans un air confiné ; enfin celle des plantes vertes à l'air libre. Voici le résultat final et le plus essentiel de toutes ses recherches : lorsqu'une plante verte a respiré pendant plusieurs jours et plusieurs nuits dans un mélange d'oxygène et d'acide carbonique, une portion de l'acide carbonique extérieur a disparu ; le carbone est fixé dans la plante, et l'oxygène dégagé à peu près en entier.

Les efforts des nombreux expérimentateurs qui ont suivi la voie tracée par de Saussure n'ont eu d'autre but que de mieux séparer les diverses circonstances du phénomène de la respiration, et de les faire varier successivement pour apprécier l'influence de chacune d'elles.

MM. Corenwinder (1), Cloëz (2), Boussingault (3), à l'aide de feuilles ou même de portions de feuilles diversement colorées, cherchèrent comment varient les produits de la respiration avec l'étendue, la couleur, la structure de la feuille qui respire. Les études de Th. de Saussure, de Bérard (4), de MM. Fremy et Decaisne (5), de M. Cahours (6) sur la respiration des fruits, nous intéressent non-seulement à cause de l'importance de ces organes, mais aussi parce qu'elles font intervenir dans le phénomène de la respiration le degré de pureté de la matière verte et le rapport de la surface d'un organe à son volume. M. de Fauconpret (7) a examiné l'influence de la température, M. Corenwinder (8) celle de l'intensité de la lumière sur la production ou la décomposition de l'acide carbonique. M. Garreau (9) a fait varier et la température et l'intensité de la lumière, et la nuance de la matière verte. Les expériences de l'abbé Tessier, de Paggioli, de

(1) *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1863, t. LVII, p. 915

(2) *Ibid.*, 1863, t. LVII, p. 834.

(3) *Ibid.*, 1866, t. LXIII, p. 706.

(4) *Annales de chimie et de physique*, t. XVI, p. 152.

(5) *Comptes rendus*, t. LVIII, p. 656.

(6) *Comptes rendus*, t. LVIII, p. 334.

(7) *Comptes rendus*, t. LVIII, p. 334.

(8) *Ibid.*, t. LXII, p. 340.

(9) *Annales des sciences naturelles*, 3<sup>e</sup> série, BOTANIQUE, t. XV, p. 5.

Gilby, de Payer, mirent hors de doute l'influence de la réfrangibilité des rayons lumineux sur le phénomène de la respiration : mais elles donnèrent souvent des résultats contradictoires. M. Guillemin (1), en 1857, reprit la même question avec toute la précision que comporte la physique moderne. Il signala les causes de désaccord des résultats obtenus avant lui : d'une part les rayons lumineux dont on s'était servi n'étaient pas des rayons simples, de l'autre l'activité respiratoire des plantes avait été mesurée par des effets différents qui n'étaient pas proportionnels. Il constata que les végétaux sont sensibles à l'action de tous les rayons du spectre solaire, même des rayons chimiques et calorifiques; que les divers effets de la lumière sur les végétaux, c'est-à-dire la décomposition de l'acide carbonique, la production de la matière verte, la flexion directe et la flexion latérale des tiges varient en grandeur d'une extrémité à l'autre du spectre; et que chacun d'eux peut être représenté par une courbe distincte présentant un ou plusieurs maxima.

MM. Cloëz et Gratiolet (2), Van Tieghem et Lechartier rattachèrent la respiration des plantes aquatiques aux lois générales de la respiration aérienne; le mode de végétation de ces plantes leur permit d'étudier le cas de la respiration dans un milieu très-différent de l'air sans sortir les végétaux de leur état normal, et de suivre le mouvement des gaz respiratoires qu'il est impossible de distinguer dans l'air atmosphérique.

Plusieurs observateurs, tels que Bérard, MM. Calvert et Ferrand (3), se sont aussi préoccupés de comparer la respiration des organes isolés à celle d'organes identiques attachés à la plante mère.

De toutes ces expériences il résulte que le phénomène de la respiration est un phénomène complexe qui varie en raison de l'intensité de la lumière, de la réfrangibilité des rayons, de la

(1) *Annales des sciences naturelles*, t. VII, 1857, p. 154.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XXXII, p. 41.

(3) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. II, p. 477.

température, de la quantité et de la nuance de la matière verte, du volume de l'organe qui respire, etc., etc.

Il en résulte encore que la composition du milieu extérieur exerce sur la respiration d'un organe une influence capitale : si les lois qui s'y rattachent, dans les travaux que j'ai cités, ne présentent pas toujours assez de netteté et de constance dans les détails, c'est qu'on n'a pas en général étudié la respiration des plantes dans des milieux de composition très-simple, constante pendant le cours d'une expérience, et soumise à des variations simples d'une expérience à une autre : il y aurait peut-être intérêt à reprendre l'étude de la respiration à ce point de vue, soit par le procédé que MM. Reiset et Regnault ont appliqué à la respiration des animaux, soit par la méthode indirecte qui sera exposée plus loin (1).

Pour compléter l'examen des éléments gazeux de l'atmosphère, il nous reste à rechercher si l'azote de l'air varie par la respiration des végétaux.

Priestley et Ingenhousz crurent à une absorption de ce gaz par les plantes ; de Saussure observa à la lumière un dégagement d'azote par les feuilles. M. Ch. Mène (2) trouva que la végétation n'altère pas le volume de l'azote de l'air.

Ces expériences prouvent simplement que le volume de l'azote de l'air varie peu par le fait de la végétation ; mais elles manquent de précision à cause de l'énorme volume d'azote qu'on est obligé de mesurer ; il y a là une cause d'erreur qu'on pourrait éviter en étudiant dans leur milieu naturel les végétaux aquatiques. C'est ce qu'ont fait MM. Cloëz et Gratiolet, Van Tieghem et Lechartier, et ils ont toujours obtenu à la lumière des gaz mêlés d'une notable proportion d'azote. Mais cet azote venait-il de la matière azotée du végétal ou bien de l'azote libre dissous dans l'eau ou enfermé dans les pores de l'organisme ? M. Bousingault leva cette difficulté en mesurant l'azote libre de l'eau et des plantes avant et après l'expérience, et il constata l'invariabilité de ce gaz (3).

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XXVI, p. 299.

(2) *Comptes rendus*, t. XXXII, p. 180.

(3) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LXVI, p. 295.

La méthode qui a servi aux expériences que je viens de rapporter mérite de fixer notre attention : elle consiste à doser dans le milieu extérieur, avant et après la végétation, l'élément dont on veut apprécier le dégagement ou l'absorption par le végétal : c'est la *Méthode directe*.

*Étude par la méthode indirecte des transformations des éléments de l'air et de l'eau par les végétaux.* — Mais on pourrait atteindre le même but par une *méthode indirecte* en dosant l'élément dont je viens de parler dans la plante elle-même avant et après la végétation.

C'est par l'examen des recherches qui se rattachent à cette seconde méthode que je compléterai l'étude de la respiration.

Ces deux méthodes, en effet, ne sont pas seulement destinées à se vérifier l'une l'autre ; elles ont encore des caractères bien tranchés qui doivent les faire préférer tour à tour suivant la nature des questions que l'on doit traiter.

Prenons pour exemple la question de l'absorption ou du dégagement de l'azote gazeux par les végétaux :

La *méthode directe* qui repose sur la mesure des volumes de gaz est plus commode, plus rapide que la *méthode indirecte* qui a recours à l'analyse organique élémentaire. Mais la première méthode recherche l'azote disséminé dans une grande quantité de matières ; les volumes d'azote mesurés sont considérables par rapport à la variation de ce gaz qu'on veut constater ; enfin c'est à l'état gazeux que s'effectuent les dosages de cet élément. Au contraire, dans la méthode indirecte, on mesure l'azote ramassé dans le volume toujours faible de la plante ; les quantités d'azote dosées sont moins fortes par rapport à la variation de ce corps simple qu'il s'agit d'apprécier ; enfin, si l'on emploie le procédé de M. Peligot, on peut évaluer l'azote condensé sous un très-petit volume. Évidemment la méthode indirecte a pour elle l'avantage de la précision.

En ce qui concerne l'azote, les résultats approximatifs, obtenus par la méthode directe, suffisent tant qu'on n'a en vue que l'étude d'un végétal déterminé. Mais la question change d'aspect si on l'envisage dans ses rapports avec les faits généraux. Ainsi

la quantité de végétaux répandus à la surface de la terre est si considérable, que la plus minime proportion d'azote absorbée ou exhalée par une plante devient, avec le temps, pour l'air atmosphérique, une cause d'altération appréciable. De même, en agriculture, suivant que l'azote est absorbé ou dégagé par les plantes, en si petite quantité que ce soit, il en résulte, avec le temps, pour la ferme, un gain ou une perte très-appreciable de composés azotés, dont il importe de tenir compte. Telles sont les considérations qui ont engagé M. Boussingault à reprendre la question des variations de l'azote de l'air dans l'acte de la végétation, avec toute la précision de la méthode indirecte.

En 1837 et 1838 l'éminent agronome fit végéter des plantes dans un sol aride à l'air libre : en dosant l'azote des graines et des récoltes correspondantes, il trouva pour le blé, l'avoine, etc. (plantes épuisantes), des résultats identiques ; mais le trèfle, les pois, etc. (plantes améliorantes), donnèrent dans les récoltes des excédants d'azote fort appréciables (1).

Le problème était à peu près résolu au point de vue de la pratique ; certaines espèces de plantes étaient capables de prendre de l'azote à l'atmosphère. Mais théoriquement il restait à décider si cet azote absorbé avait pour origine l'azote gazeux ou bien certains composés azotés de l'atmosphère : cette dernière hypothèse s'accrédita, surtout à la suite des travaux qui démontrèrent l'existence normale de l'ammoniaque et de l'acide nitrique dans l'air ambiant.

C'est dans cette vue que M. Boussingault, en 1851, reprit ses premiers essais ; seulement il eut soin de faire végéter ses plantes non plus à l'air libre, mais dans un volume restreint d'acide carbonique et d'air atmosphérique mélangés, dont les composés azotés étaient tout à fait négligeables. Les résultats furent négatifs (2).

Pour s'assurer que la stagnation de l'air qui entravait peut-être la marche de la végétation, n'avait point été un obstacle à l'absorption de l'azote, M. Boussingault recommença ses expé-

(1) *Annales de chimie et de physique*, t. LXVII, p. 5, et t. LXIX, p. 353.

(2) *Annales de chimie et de physique*, t. XLI, p. 5, et t. XLIII, p. 149.

riences avec une circulation d'air convenablement purifié ou même à l'air libre dans des conditions spéciales ; les résultats furent encore négatifs (1). Pour rechercher si une végétation plus vigoureuse ne donnerait pas aux plantes la force d'absorber l'azote libre, il ajouta au sol des engrais minéraux et azotés ; les résultats persistèrent à être négatifs ; l'azote de l'air ne fut point absorbé (2).

M. Boussingault a apporté jusque dans les moindres détails de ces dernières expériences une précision qui défie toute critique, et qui, inconnue jusque-là dans ce genre de recherches, n'a point été dépassée. C'est là une sérieuse garantie de l'exactitude des résultats. Mais il y a, même dans les expériences les plus irréprochables, des causes d'erreurs dont on doit, avant de conclure, déterminer l'influence sur les nombres obtenus, précaution trop souvent négligée dans les recherches de physiologie, là précisément où la complication des phénomènes la rend plus nécessaire. Or les résultats de M. Boussingault ne sauraient être attribués à des erreurs d'expérience ; ils portent en eux-mêmes la preuve certaine de leur exactitude. En effet, M. Boussingault a toujours retrouvé après chaque expérience, dans les produits de la végétation, tout l'azote combiné des semences et du sol, à 2 ou 3 milligrammes près. Cette légère différence se compose : 1° de l'azote qui a pu être absorbé ou exhalé pendant la végétation ; 2° de l'erreur totale d'expérimentation. Ces deux termes sont *indépendants* l'un de l'autre, et puisque leur somme est *constamment* plus petite que 3 milligrammes, chacun d'eux doit être moindre que cette quantité. Voici donc la conclusion rigoureuse et certaine à laquelle nous sommes conduits : les végétaux que M. Boussingault a soumis à ses expériences, dans les conditions où il s'est placé, n'absorbent pas l'azote de l'air en quantité supérieure aux limites d'erreur que comportent les procédés les plus exacts de l'analyse organique élémentaire.

M. G. Ville a étudié la même question par la même méthode ; et il a généralement obtenu dans les récoltes plus d'azote que

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, 1855, t. XLIII, p. 149.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 1856, t. XLVI, p. 5.

les graines et les engrais n'en contenaient ; cet excédant augmentait avec la vigueur des végétaux, et était plus fort pour les plantes améliorantes que pour les plantes épuisantes (1).

Je ne conteste pas le mérite des expériences de M. G. Ville ; mais le savant professeur du Muséum ne paraît pas s'être astreint aussi rigoureusement que M. Boussingault à réduire le plus possible l'azote combiné que le sol, l'air, les vases, etc., apportent accidentellement dans les expériences ; à doser directement et en totalité l'azote de ces matières ; à ne fonder aucun raisonnement sur des analogies plus ou moins lointaines ; à n'accorder aucune place aux hypothèses même les plus vraisemblables. Est-ce à ces imperfections ou bien à une absorption réelle qu'il faut attribuer l'azote en excès des récoltes ? C'est là le nœud de la question.

Or, dans un certain nombre de cas, M. Boussingault et M. Ville ont expérimenté dans des conditions semblables et pourtant leurs résultats sont en désaccord ; si donc, comme je pense l'avoir démontré, les résultats de M. Boussingault sont exacts, ceux de M. G. Ville doivent être mis sur le compte des causes d'erreur que j'ai signalées. Dans d'autres cas, M. Ville s'est plus ou moins éloigné des conditions des expériences de M. Boussingault ; mais les excès d'azote dans les récoltes ont encore été de même ordre de grandeur que ceux des premières expériences ; on ne saurait donc les attribuer avec certitude à l'absorption de l'azote de l'air par les plantes, plutôt qu'aux erreurs d'expérimentation.

Si donc il m'était permis d'émettre une opinion sur une question aussi délicate, aussi controversée, voici comment je la formulerais : dans un certain nombre de cas, parfaitement déterminés, les végétaux n'absorbent pas l'azote libre en quantités supérieures aux limites d'erreur des analyses les plus exactes ; mais on ne saurait affirmer qu'ils ne l'absorbent pas absolument. Dans tous les autres cas, il règne encore beaucoup d'incertitude sur le fait de l'absorption de l'azote libre par les plantes.

(1) *Comptes rendus*, t. XXXI, p. 578, 1850, et t. XXXV, 1852. -- *Annales de chimie et de physique*, t. XLIX, p. 197.

La méthode indirecte convient encore admirablement pour déterminer le résultat final de l'action de l'acide carbonique et de l'eau sur le développement des plantes dans les milieux artificiels.

C'est ainsi que de Saussure (1), par le dosage direct du carbone dans les végétaux, vérifia ce que la méthode indirecte lui avait indiqué moins sûrement : que dans l'acte de la végétation, le carbone de l'acide carbonique décomposé est fixé dans les plantes. Il reconnut également que l'excès du poids des récoltes sur celui des graines est de beaucoup supérieur au poids du carbone fixé, d'où il conclut que les éléments de l'eau entrent en combinaison dans l'organisme.

Plus tard, M. Boussingault (2) précisa ces faits, et constata que le phénomène de la végétation dans un milieu artificiel se résume en un gain de carbone, d'oxygène et d'hydrogène en excès par rapport à l'oxygène, qui ne peuvent avoir pour origine que l'acide carbonique et l'eau. Inversement, il constata dans la germination une perte de ces trois corps simples, avec production d'acide carbonique et d'eau (3).

Ces études seraient incomplètes si l'analyse immédiate ne succédait à l'analyse élémentaire pour suivre les transformations des principes définis des végétaux, d'abord dans la masse de l'organisme, ensuite avec l'aide du microscope, dans chacun des organes élémentaires à la formation desquels ils participent. J'ai déjà indiqué dans l'exposé de la méthode analytique les principaux caractères de ces sortes de recherches. Elles trouvent de nouvelles ressources dans la méthode synthétique; cette méthode, en simplifiant les phénomènes chimiques de la vie, simplifie l'analyse des principes immédiats des végétaux en même temps qu'elle permet d'en saisir les rapports avec les éléments du sol et de l'atmosphère.

Aussi de sérieux travaux ont été entrepris dans cette direction et ont singulièrement éclairé l'étude des réactions intimes des

(1) *Recherches chimiques sur la végétation*, p. 39.

(2) Boussingault, *Économie rurale*, t. 1, p. 73 et suivantes.

(3) *Comptes rendus*, p. 40 et suivantes.

végétaux, en particulier de celles qui accompagnent la germination ; je citerai principalement les recherches de M. Boussingault (1) sur les transformations des principes ternaires de la graine pendant qu'elle végète à l'obscurité, celles de MM. Oudemans et Rauwenhoff sur la germination (2), et les études micrographiques de Th. Hartig (3), J. Sachs (4), A. Gris, etc. (5).

*Loi de la statique chimique des êtres vivants.* — Telle est la marche générale qui a été suivie dans l'étude des rapports des éléments de l'air et de l'eau avec la végétation. Parmi toutes les découvertes que j'ai signalées, il faut remarquer le résultat définitif des recherches de Th. de Saussure : l'acide carbonique et l'eau fournissant aux végétaux du carbone, de l'oxygène et de l'hydrogène, avec élimination d'oxygène ; des composés minéraux se transformant en matière organisée, voilà assurément un fait bien digne d'être médité ; c'est peut-être le plus grand progrès que la chimie des végétaux ait jamais accompli. Je vais en donner la preuve : on se rappelle que la méthode analytique et la méthode mixte n'ont pu relier par des lois simples tous les phénomènes de la végétation. Mais il suffira de rapprocher quelques-uns des faits épars, constatés par ces deux méthodes, de l'important résultat de Th. de Saussure, pour composer la loi générale de la chimie des êtres vivants ; cette loi que MM. Liebig et Dumas ont conçue à peu près en même temps, M. Dumas l'a exprimée d'une manière plus complète, plus précise et plus vraie. Elle se résume dans cette formule (6) :

(1) *Comptes rendus*, 1864, t. LVIII, p. 917.

(2) *Linnaea*, XIV, 1859, p. 213.

(3) *Entwicklungsgeschichte der Pflanzen*.

(4) *Sitzungsbericht..... der kais. Akad. der Wiss. Wien*, 1859.

(5) *Annales des sciences naturelles*, t. II, p. 5, 1864.

(6) *Annales de chimie et de physique*, t. IV, p. 115, 3<sup>e</sup> série.

L'N VÉGÉTAL :

*Produit* des matières sucrées, grasses, albuminoïdes.

*Réduit* avec dégagement d'oxygène :



*Absorbe* de la chaleur.

*Est immobile.*

L'N ANIMAL :

*Consomme* des matières sucrées, grasses, albuminoïdes.

*Produit* en absorbant de l'oxygène :



*Dégage* de la chaleur.

*Se meut.*

Sans doute cette loi est incomplète, elle laisse de côté une classe d'êtres (les êtres microscopiques) dont la place dans le cercle de la vie a été assignée par des travaux plus récents ; elle n'indique pas les rapports des êtres vivants avec les corps simples autres que le carbone, l'hydrogène, l'oxygène et l'azote. Mais cette loi a suscité des travaux de premier ordre ; elle a reçu la sanction de l'expérience, et la base qu'elle offre à la théorie chimique des êtres vivants est inébranlable.

*Insuffisance des éléments de l'air et de l'eau pour produire des végétations normales.* — Avant de poursuivre le cours de ces études, il importe de mesurer le chemin que la méthode synthétique a parcouru jusqu'ici : cette méthode, nous l'avons vu, a été fondée par les expériences qui établirent que la matière organisée peut se produire à l'aide des composés définis de l'air et de l'eau ; dès lors des problèmes d'une haute portée ont été posés, poursuivis, résolus pour la plupart. Mais le phénomène chimique de la végétation est-il enfermé tout entier dans le cercle étroit des réactions de deux ou trois éléments : l'eau, l'acide carbonique, l'oxygène ? N'entrevoions-nous rien au delà de ces limites ? Cette question se confond avec celle-ci : les éléments de l'air et de l'eau, suffisants pour former de la matière organisée, suffisent-ils à donner à un végétal tout le développement qu'il peut acquérir dans les conditions les plus favorables ?

Van Helmont, Boyle, Tillet, Braconnot, semblèrent résoudre affirmativement cette question, car ils obtinrent dans un sol inerte, à l'aide des éléments de l'air et de l'eau, des plantes vigoureuses qui donnèrent naissance à des graines qui furent plusieurs fois ressemées. Mais à la simple lecture de leurs mémoires,

on reconnaît bien vite qu'une foule de substances étrangères à l'air et à l'eau ont dû s'introduire dans leurs essais. D'autre part, Duhamel vit un chêne maintenu dans l'eau prospérer d'abord, et après quelques années ralentir ses progrès. Hassenfratz n'obtint, des graines qu'il semait sur l'eau, que des plantes rudimentaires, qui produisirent des fleurs et non des graines. Mais peut-être l'absence d'un sol mécanique solide était-elle une condition défavorable à la végétation. De Saussure fit des expériences analogues, en se rapprochant davantage des conditions de la nature par l'emploi d'un sol poreux inerte, et il ne réussit encore à produire que des plantes fort incomplètes.

Il est donc hors de doute que les éléments de l'air et de l'eau ne suffisent pas au développement normal et régulier des végétaux. Dès lors le phénomène de la végétation, tel que nous l'avons étudié jusqu'ici, n'est qu'un phénomène incomplet; il ne paraît avoir que des rapports fort éloignés avec les phénomènes naturels, et ainsi restreint, il perd une partie de l'intérêt immense qu'il semblait offrir (1).

*Possibilité d'accroître considérablement par l'addition de certains sels les récoltes fournies par les éléments de l'air et de l'eau.* — Il en serait autrement si, en ajoutant à l'air et à l'eau *certaines composés chimiques définis*, on parvenait à accroître dans un rapport assez grand le poids des récoltes : on réaliserait un progrès considérable qui conduirait infailliblement à de nouvelles découvertes. A priori, rien ne prouve la possibilité de ce progrès, car

(1) Les recherches sur la végétation dans les milieux artificiels sont de même ordre que les recherches de Magendie sur la nutrition des animaux avec des mélanges de composés chimiques définis : sucre, matière grasse, albumine. Cet illustre physiologiste réussit à soutenir pendant quelque temps la vie d'animaux soumis au régime de ces mélanges; mais il ne put les maintenir longtemps en état de santé; la nourriture artificielle dont il se servait était donc insuffisante pour les animaux, de même que l'air et l'eau ne suffisent pas au développement des végétaux. Magendie, malgré ses efforts, ne put composer un aliment complet. Du moins il indiqua la condition essentielle du progrès de cette question à laquelle il attachait une grande importance : « séparer de la viande un principe qui, réuni à l'albumine, à la gélatine, à la fibrine, » les convertisse en aliments suffisants pour les Carnivores. » (*Comptes rendus*, t. XIII, p. 237.)

rien ne démontre qu'il existe un mélange artificiel de composés définis, qui puisse remplacer vis-à-vis des végétaux les matières naturelles des engrais formées sous l'influence de la vie. C'est à l'expérience seule à nous dire si ce progrès est réalisable, et à qui nous devons en attribuer le mérite.

Les expérimentateurs qui s'occupèrent de cette question furent utilement guidés, par les résultats de la méthode mixte et de la méthode analytique, dans la recherche de substances propres à fertiliser les sols arides des expériences qui précèdent. Wiegmann et Polstorff, dans du sable mêlé de divers sels et d'un précipité chimique extrait de la tourbe, obtinrent des végétaux plus vigoureux que dans le sable pur. Mais cet extrait de tourbe était trop indéterminé pour être classé parmi les composés chimiques définis, et le but que nous avons en vue n'était pas atteint (1).

Le prince de Salm comprit mieux la question lorsqu'il fit végéter de l'avoine dans du sable exclusivement mêlé de sels. Les plantes allèrent jusqu'à donner des graines, et les récoltes furent plus fortes que dans le sable pur. Mais les résultats ne furent ni assez constants, ni assez précis pour servir de bases à des expériences exactes (2).

Les premières expériences décisives sur cette question sont dues à M. Boussingault (3).

En 1855, il fit végéter des *Helianthus* dans un vase en porcelaine avec du sable, des cendres alcalines, des cendres lavées, du nitre. Le poids de la récolte fut au moins vingt fois plus fort que dans le sable pur.

Cette expérience réalise le progrès que j'ai indiqué, puisque le poids des récoltes est augmenté dans un rapport numérique considérable par l'addition de composés chimiques définis.

M. G. Ville acheva de fixer les conditions de ce progrès en remplaçant les mélanges complexes dont M. Boussingault avait fait usage par des sels définis.

(1) Liebig, *Chimie appliquée, etc.*, p. 332.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XXXII, p. 461.

(3) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XLVI, p. 5.

Il réussit à accroître le poids des récoltes *de blé* dans un rapport considérable, en ajoutant au sable pur les sels suivants (1) :

Nitrate de potasse.....	0,792
Phosphate de chaux.....	2,610
— de magnésie.....	3,800
Sulfate de chaux.....	0,100
Chlorure de sodium.....	0,100
Oxyde de fer.....	0,100
Silicate de potasse.....	3,090
— de soude.....	0,260

La voie que l'on doit suivre pour apprécier l'influence et le rôle de chacun de ces éléments dans la végétation est à présent toute tracée : il faut supprimer un à un les éléments salins dont le mélange s'est montré tellement efficace, en faire varier les proportions, les remplacer par d'autres éléments, comparer les poids de récoltes obtenues dans ces différentes conditions, et compléter au besoin ces recherches par l'analyse des produits de la végétation.

*Influence des composés azotés sur la végétation.* — Parmi les substances salines qui favorisent la végétation, l'élément azoté se place au premier rang par son importance; aussi a-t-il le plus attiré l'attention des savants.

Déjà, en 1848, le prince de Salm avait reconnu les bons effets des nitrates sur la végétation dans les milieux artificiels. En 1855, MM. Boussingault (2) et G. Ville (3) arrivèrent, chacun de leur côté, à des résultats plus précis : ils prouvèrent que l'addition du nitre à un mélange convenable de sels minéraux accroît notablement le poids des récoltes.

M. Boussingault mesura les effets du nitre par des nombres qui accusent de la part de ce sel une influence considérable : il obtint pour les poids des récoltes avec et sans nitre des rapports variables entre 20 : 1 et 40 : 1. Il constata encore que le

(1) *Comptes rendus*, t. XVII, p. 440.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XLVI, p. 5.

(3) *Comptes rendus*, t. XLI, p. 938

pois du nitre est à peu près proportionnel à l'accroissement de récolte qu'il produit, pourvu que les quantités de nitre ajoutées soient suffisamment petites ; c'était indiquer que le nitre intervient probablement suivant des proportions définies dans la formation du végétal (1).

En démontrant que cette substance peut être remplacée dans ses effets sur les végétaux par le nitrate de soude, le nitrate d'ammoniaque, le nitrate de chaux, MM. Boussingault et G. Ville prouvèrent que les nitrates agissent principalement par l'acide nitrique. Par l'analyse, M. Boussingault reconnut que l'azote du nitre passe dans le végétal ; M. Ville s'assura qu'il y existe à l'état de combinaison organique (2). Dès lors il était hors de doute que si les nitrates ajoutés aux éléments minéraux augmentent considérablement le poids des récoltes, leur rôle est de fournir aux plantes l'azote nécessaire pour former certains composés organiques.

C'est à M. G. Ville que revient le mérite d'avoir prouvé que les sels ammoniacaux, quel qu'en soit l'acide, peuvent être substitués aux nitrates, et produisent sur la végétation des effets analogues, d'où il résulte que les rôles de ces composés sont identiques (3).

Il est bien remarquable que deux composés chimiquement aussi différents que l'acide nitrique et l'ammoniaque puissent se remplacer physiologiquement, et il est intéressant de savoir s'ils peuvent être remplacés par d'autres composés de l'azote. M. G. Ville a entrepris sur ce sujet une série de recherches qui l'ont conduit à des résultats dont voici le sens général : les nitrites, les composés du cyanogène ne favorisent pas la végétation ; les dérivés des sels ammoniacaux soit par privation d'eau, soit par substitution de carbures d'hydrogène à l'hydrogène, peuvent remplacer les sels ammoniacaux eux-mêmes, tant qu'ils ne s'éloignent pas trop de leur type par la complication de leur formule ; car, dans ce dernier cas, ils deviennent inactifs. Ce chi-

(1) *Comptes rendus*, t. XLVII, p. 807.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. XLIX, p. 168.

(3) *Comptes rendus*, t. XXXI, p. 578, et t. XXXV, p. 650.

miste a encore reconnu que les diverses substances actives, à égalité d'azote, ne sont pas également efficaces, que, par exemple, les nitrates produisent plus d'effet sur la végétation que le chlorhydrate d'ammoniaque, et ce dernier plus encore que l'oxalate. Enfin, il a trouvé un rapport constant entre les effets numériques de différents sels ammoniacaux et ceux de leurs dérivés de même ordre (1). Il paraît admettre que l'arrangement moléculaire des éléments joue le principal rôle dans le mode d'action de ces composés; il indique même les effets des composés azotés sur la végétation comme un moyen propre à conduire à la formule rationnelle de ces corps. Cette hypothèse ingénieuse paraît s'accorder avec l'ensemble des faits observés; elle explique pourquoi les dérivés du cyanogène se montrent inactifs comme ce radical; pourquoi tous les composés de l'ammoniaque sont moins favorables à la végétation que ceux de l'acide nitrique, et pourquoi les dérivés de même ordre produisent des effets qui sont en rapport constant avec ceux de leurs types, et qui diminuent à mesure qu'ils s'éloignent de ces types. Mais elle n'explique pas aussi facilement pourquoi des composés aussi différents par leur formule que l'acide nitrique et l'ammoniaque, se rapprochent tellement par leurs effets sur la végétation, tandis que l'urée et l'éthylurée, si semblables par leur constitution chimique, sont si éloignées par leurs propriétés physiologiques.

J'admettrais plus volontiers que l'acide nitrique et l'ammoniaque sont les seuls composés dont l'azote soit directement assimilable, et que le mode d'action de tous les autres composés azotés sur les plantes est lié à la décomposition de ces corps en acide nitrique ou en ammoniaque, et aux produits secondaires qui accompagnent cette décomposition. Cette explication me semble plus en harmonie avec les faits généraux représentés par la loi fondamentale posée par M. Dumas. D'ailleurs, elle me paraît d'accord avec les faits signalés par M. G. Ville jusque dans les moindres détails: si les nitrates et les différents sels ammonia-

(1) *Comptes rendus*, t. LVII, p. 464.

caux ne produisent pas des effets *numériquement* identiques, les acides ou les bases que ces composés mettent en liberté lorsque l'azote les abandonne, ne sont probablement pas étrangers à ce résultat, car on ne peut guère douter (comme on le verra plus loin) de l'influence de l'acidité et de l'alcalinité des milieux sur la végétation. Les autres composés que M. G. Ville a reconnus favorables à la végétation sont ceux qui se rapprochent le plus de l'ammoniaque, et qui paraissent les plus propres, dans les conditions où ils étaient placés, à se décomposer en donnant de l'ammoniaque, sans dégager trop de substances nuisibles aux végétaux : si le carbonate d'ammoniaque et l'urée ont exercé des effets rigoureusement identiques, et si l'éthylurée s'est montrée inactive, faut-il s'en étonner? M. Van Tieghem n'a-t-il pas démontré que l'urée, abandonnée à elle-même, dans les conditions des expériences que nous venons de rappeler, se transforme simplement en carbonate d'ammoniaque, tandis que l'éthylurée reste inaltérée (1)? Au reste, je n'attacherai pas à ces idées préconçues plus d'importance qu'elles ne méritent et je m'empresse de revenir à l'étude positive des faits.

*Influence des éléments minéraux sur la végétation.* — Les principes de l'air et de l'eau, avec l'élément azoté, ne suffisent pas à donner à la végétation toute la vigueur qu'elle peut acquérir dans les milieux artificiels. Déjà le prince de Salm avait réussi à l'activer en ajoutant aux composés azotés des éléments minéraux sous forme de sels plus ou moins complexes. M. G. Ville chercha à donner à ce résultat la netteté qui lui manquait en démontrant qu'on peut accroître le poids des récoltes dans le rapport de 2 à 1, en donnant pour auxiliaire au principe azoté un mélange de plusieurs sels minéraux (2). Mais les conditions de cette expérience étaient complexes, puisque l'élément azoté, au lieu d'être un composé défini, était formé de graines de lupins pulvérisées. M. Boussingault (3) de son

(1) Van Tieghem, *Recherches sur la fermentation de l'urée et de l'acide hippurique*, 1864.

(2) *Comptes rendus*, t. XLV, p. 996.

(3) *Ibid.*, p. 833.

côté fit la même expérience, en employant le nitre comme matière azotée, en éloignant davantage les impuretés, et l'addition des matières minérales porta le poids des récoltes de 1 gramme à 20 grammes. Ces matières minérales, il est vrai, étaient formées d'un mélange de cendres et de phosphates; mais de là à leur substituer des sels purs et définis, il n'y avait plus qu'un pas. M. G. Ville (1) accomplit ce progrès : il constata que les récoltes obtenues avec le nitre seul pouvaient devenir beaucoup plus considérables par l'addition des sels suivants : phosphate de chaux, de magnésie, sulfate de chaux, silicate de potasse, silicate de soude, oxyde de fer, chlorure de sodium.

Ces expériences font ressortir et mesurent l'influence favorable qu'exerce *un mélange d'éléments minéraux* sur le poids des récoltes *en présence d'un composé défini de l'azote, et des éléments de l'air et de l'eau.*

Il ne reste plus qu'à rechercher quels sont les composés définis de ce mélange auxquels ces effets doivent être attribués.

M. G. Ville (2) annonça, en 1858, que la suppression des acides (phosphorique, sulfurique, chlorhydrique) réduit la récolte à  $\frac{1}{35}$  du poids obtenu avec l'engrais complet, et que la suppression des alcalis (potasse et soude) abaisse considérablement le poids des récoltes.

Ces nombres ne laissent aucun doute sur l'efficacité des acides et sur celle des alcalis du mélange minéral dont on a fait usage; mais il importait de déterminer les éléments actifs de ces mélanges; tel est le but des expériences qui suivent.

M. Boussingault (3) reconnut le premier en 1857 que par la suppression du phosphate de chaux de l'engrais complet, le poids de la récolte devient vingt fois moindre que la récolte normale. Cependant les essais qui le conduisirent à ce résultat n'étaient pas rigoureusement comparables. En 1861, M. Ville mesura plus exactement les effets du phosphate de chaux et en fit

(1) *Comptes rendus*, t. XLVII, p. 438.

(2) *Ibid.*

(3) *Ibid.*, t. XLV, p. 833.

varier les proportions. Le phosphite de chaux et l'hypophosphite de chaux, qu'il substitua au phosphate, demeurèrent inactifs(1). Ces expériences sur les sels de chaux, rapprochées des essais sur les acides (phosphorique, sulfurique, chlorhydrique), démontrent que l'acide phosphorique, à l'état de sel, ajouté à tous les autres éléments de l'engrais complet, accroît les récoltes dans un rapport considérable; que cet effet ne dépend pas de la nature acide de ce composé, mais des éléments qu'il contient, en même temps que de la forme de la combinaison. Elles donnent une idée de la grandeur numérique des effets de cet oxyde. Enfin, elles nous révèlent une analogie frappante entre l'action physiologique des composés du phosphore et des composés de l'azote.

L'attention de M. Ville (2) s'est également portée sur l'action de la potasse sur les plantes : il a obtenu, avec et sans silicate de potasse, des récoltes proportionnelles aux nombres 4 et 1. La soude substituée à la potasse se montra à peu près inactive sur la végétation. Ces résultats, comparés aux effets des alcalis observés précédemment, font ressortir l'influence favorable qu'exerce la potasse sur la végétation, dans un milieu artificiel convenablement choisi, non pas en vertu de son alcalinité comme on eût pu le présumer, mais en vertu de sa constitution propre.

Dans diverses expériences, M. Ville a supprimé tour à tour les autres éléments de l'engrais minéral complet, savoir : la silice, la chaux, la magnésie, l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, la soude, l'oxyde de fer, etc., et les récoltes obtenues ont été entre elles dans des rapports voisins de l'unité; nous pouvons donc conclure que dans les conditions des expériences précédentes, ces divers oxydes n'ont exercé sur le poids des récoltes qu'une action faible par rapport à celle qui appartient à l'acide nitrique, à l'acide phosphorique, à la potasse, et, par suite, une action négligeable pour une première approximation.

Si l'on compare les plantes obtenues jusqu'ici dans les milieux artificiels les plus complets, aux récoltes des terres fertiles, on ne

(1) *Comptes rendus*, t. LIII, p. 832.

(2) *Ibid.*, t. LI, p. 246 et 437.

peut s'empêcher de remarquer que l'art est loin encore d'être parvenu à égaler la nature : en effet, les végétaux obtenus artificiellement, par leurs dimensions, leur poids et surtout le nombre de leurs grains, ont été très-inférieurs aux produits naturels.

Une circonstance particulière de l'intervention de certains éléments dans la végétation mérite d'être remarquée : si l'on ajoute en petite quantité des composés de certains corps simples dans un milieu artificiel, l'accroissement de la récolte sera considérable par rapport au poids du corps simple efficace. Ainsi, d'après certaines expériences, 1 gramme d'azote ajouté dans un milieu à l'état de nitre, peut produire un excédant de récolte de 60 grammes, et 1 gramme de phosphore à l'état de phosphate, un excédant de 200 grammes.

*État de la question du développement des végétaux dans les milieux artificiels, après les expériences qui précèdent.* — Les résultats définitivement acquis à la science par les expériences qui précèdent sont les suivants :

Pour obtenir les plus fortes récoltes qu'on ait réussi jusqu'ici à produire dans les milieux artificiels, il est nécessaire d'ajouter *simultanément* aux éléments de l'air et de l'eau un élément azoté (acide nitrique ou ammoniac), de l'acide phosphorique et de la potasse, à l'état de sels ; car la suppression de l'un ou de l'autre de ces trois éléments a diminué le poids des récoltes, suivant des rapports à peu près marqués par les nombres :

- 40, pour l'élément azoté.
- 30, pour l'acide phosphorique.
- 4, pour la potasse.

Ces éléments, dans les conditions des expériences précédentes, paraissent à peu près suffisants pour fournir ces récoltes maxima, car la chaux, la magnésie, la soude, l'oxyde de fer, la silice, l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, ajoutés aux premiers éléments, se sont montrés à peu près inactifs.

Les proportions d'azote, de phosphore, de potassium, qui interviennent dans la formation d'un certain poids de plante, sont faibles par rapport à ce poids.

Enfin, les récoltes obtenues jusqu'ici dans les milieux artificiels sont très-inférieures en poids à celles des terres fertiles.

Ces études sont cependant encore incomplètes.

En effet, dans toutes les expériences qui précèdent, l'erreur maxima d'expérimentation n'a pas été déterminée ; on ne sait donc pas exactement jusqu'à quel point on peut compter sur les nombres obtenus.

Il eût été important de rechercher l'influence de l'alcalinité ou de l'acidité du sol sur la végétation, influence qu'il est bien difficile de mettre en doute, comme on le verra plus loin : or, en faisant varier les éléments salins du sol, on a presque toujours fait varier les propriétés acides ou alcalines du milieu. Quelle part cette influence a-t-elle eue dans les résultats ? Il est impossible de le préciser ; mais c'est à elle sans doute qu'il faut rapporter plusieurs faits singuliers, tels que les effets nuisibles des alcalis en l'absence des acides (1).

Souvent on a supprimé à la fois plusieurs éléments, par exemple la silice et la potasse, l'acide phosphorique et la chaux : or, pour mesurer exactement l'effet de chaque oxyde salin sur les végétaux, il faudrait le supprimer seul.

Il serait donc utile, en tenant compte de ces diverses circonstances, de rechercher à nouveau les effets de la silice, de la chaux, etc., sur la végétation ; de mesurer avec plus de précision les effets de l'azote, de l'acide phosphorique, de la potasse ; de faire varier les quantités de ces éléments, de les remplacer par d'autres composés analogues par leur formule ou par leurs radicaux. Enfin, ces recherches devraient être appliquées successivement à des végétaux très-différents, afin de comparer les milieux artificiels propres au développement de chacun d'eux.

Ce travail compléterait la série d'expériences qui se rattachent directement au progrès de la méthode synthétique, qu'on a réalisé par l'addition d'un mélange convenable de matières salines aux éléments de l'air et de l'eau. Mais alors la voie semée de découvertes que nous avons parcourue jusqu'ici serait-elle

(1) *Comptes rendus*, t. XLVII, p. 438, et t. LI, p. 246.

définitivement fermée, ou bien pourrait-on espérer accomplir encore un nouveau progrès, c'est-à-dire découvrir de nouveaux éléments qui, ajoutés à ceux que ces expériences auraient reconnus essentiels à la végétation, élèveraient le poids des récoltes dans un rapport assez considérable? C'est là une question qu'il est impossible de décider à priori, mais qu'on pourrait essayer de résoudre par deux moyens : d'une part, certains éléments essentiels à la végétation se trouvaient peut-être dans les impuretés des sols artificiels dont on s'est servi jusqu'ici, en quantités petites, mais suffisantes pour le développement des végétaux : dès lors, leur influence sur le poids des récoltes a dû échapper à toutes les recherches, et l'on parviendrait à la manifester *par l'emploi de matières mieux purifiées* : cette hypothèse n'a rien d'in vraisemblable, mais ce n'est après tout qu'une hypothèse. D'autre part, il est permis de croire qu'en ajoutant aux sols artificiels, jusqu'ici employés, *certaines composés chimiques*, on augmenterait notablement le poids des récoltes : on s'expliquerait par là l'infériorité des récoltes des milieux artificiels dont on s'est servi sur les récoltes des terrains naturels ; mais on peut également expliquer cette différence, en admettant que les mélanges minéraux artificiels sont moins propres à la nutrition des végétaux que les composés organiques de la nature.

*Des sels nuisibles à la végétation.*— En regard des substances chimiques qui favorisent le développement des végétaux se placent les substances qui leur nuisent, c'est-à-dire les poisons. On ignore encore les lois générales de l'action chimique de ces corps sur les végétaux. Cependant plusieurs chimistes ont étudié les effets physiologiques d'un grand nombre de poisons, qui se rencontrent parmi les composés chimiques les plus divers. Je me contenterai de remarquer qu'à côté de sels minéraux éminemment favorables à la végétation, il s'en trouve d'autres qui lui sont des plus funestes ; tels sont : les sels d'argent et de mercure qui tuent les plantes à la dose de 4/1000 ; les sels d'or et de platine, qui sont moins énergiques ; les sels de cuivre, d'étain.

de plomb, d'arsenic, etc., qui paraissent moins actifs que les sels précédents.

Ces sels ont ceci de particulier qu'ils manifestent leur action à petite dose, comme les sels utiles, et qu'ils sont également funestes aux animaux (1).

*Applications diverses de la méthode synthétique.* — Tous ces résultats scientifiques prouvent qu'il existe une relation entre le développement d'un végétal dans le milieu qui l'entoure, et la présence dans ce milieu de certains corps simples sous certaines formes et en certaines quantités.

C'est ainsi que la méthode synthétique nous conduit à l'idée d'appliquer les plantes à l'analyse chimique (2). Par exemple, si l'on prépare deux sols artificiels contenant tous les éléments essentiels à la végétation moins un ; si dans l'un d'eux on ajoute la matière à analyser, et si l'on sème dans ces deux milieux des graines identiques, de la comparaison des récoltes on pourra conclure si l'élément supprimé dans les deux sols artificiels existe dans la matière soumise à l'analyse, et à quel état, et en quelle quantité. Cette méthode ne présente quelque avantage sur les autres procédés que dans un seul cas : l'analyse chimique des terrains au point de vue de la végétation. En effet, l'action d'un corps simple du sol sur un végétal résulte de la nature de ce corps simple, de la nature des composés dont il fait partie, de leurs propriétés physiques et des réactions qu'ils peuvent subir : ce sont ces éléments multiples que l'analyse chimique n'atteint souvent qu'avec peine et incomplètement. Mais l'embarras augmente encore lorsqu'on veut interpréter les résultats analytiques, et en déduire l'action du corps simple sur les végétaux. Aussi l'insuffisance de l'analyse chimique ordinaire appliquée à

(1) *Comptes rendus*, t. XVII, p. 112.

(2) La méthode analytique conduit également à une autre application des plantes à l'analyse chimique, dont l'industrie s'est depuis longtemps emparée : elle consiste à profiter du pouvoir d'absorption des végétaux à l'égard de certains sels du sol, pour les condenser dans des mélanges plus simples que les matières premières et opérer ainsi une première sélection des éléments de ces matières.

l'agriculture est-elle proclamée par tous les agronomes. Au contraire, l'analyse par la végétation détermine directement l'effet produit sur les plantes par chaque principe du sol ; elle va droit au but et dispense de toute interprétation. En outre, comme on l'a fort bien remarqué à propos des phosphates, les végétaux peuvent souvent déceler dans le sol des quantités fort petites de certaines substances qui échapperaient peut-être à l'analyse ordinaire. Mais il est à peine besoin d'ajouter que l'analyse du sol par les plantes est un procédé pénible, d'une durée considérable, d'une exactitude parfois douteuse.

Un des premiers, le prince de Salm, s'appuyant sur les résultats de la méthode synthétique, signala en termes assez vagues la possibilité d'appliquer les végétaux à l'analyse chimique, et l'utilité qu'offrirait cette méthode pour suppléer à l'analyse par les réactifs, dans la recherche de la composition des terres arables (1). M. G. Ville précisa ces idées, et insista sur le côté pratique de ce procédé d'analyse des terrains en vue de l'agriculture (2).

M. Boussingault donna à cette méthode un caractère vraiment scientifique en l'appliquant avec beaucoup de rigueur à la solution d'une question très-controversée de chimie agricole : il démontra que, de tous les composés azotés de la terre végétale, l'acide nitrique et l'ammoniaque sont à peu près les seuls qui soient immédiatement aptes à l'assimilation.

Nous avons vu comment la méthode mixte rattache empiriquement certains effets complexes des amendements, des engrais, des assolements, à des faits d'observation plus simples ; mais elle ne les atteint pas tous pour les ramener sûrement à des principes généraux : en un mot, elle ne conduit pas à une théorie rationnelle et complète de la pratique agricole. Cette œuvre est réservée à la méthode synthétique, qui renferme en elle-même tous les principes de cette théorie. Admettons, en effet, que l'on connaisse le milieu artificiel propre au développement de chaque

(1) *Comptes rendus*, t. LVII, p. 272.

(2) *Annales de chimie et de physique*, t. XXXII, p. 401.

espèce de plante ; qu'en outre, on ait déterminé la composition des engrais et des amendements divers : on pourra reconnaître par l'analyse si un terrain possède tous les éléments nécessaires à la vie d'un végétal ou s'il manque de quelques-uns : c'est le fondement de la théorie des assolements ; on connaîtra également quels principes essentiels à un végétal, un engrais ou un amendement ajoutera au sol, et par suite quelle en sera exactement l'efficacité. C'est ainsi que l'on rapporte aujourd'hui les effets généraux des engrais à l'élément azoté principalement, ensuite à l'acide phosphorique, et enfin à la potasse. C'est ainsi qu'on explique les effets des assolements par l'influence prédominante qu'exercent tour à tour ces divers éléments sur diverses cultures. Par exemple, les avantages que trouve le cultivateur à faire alterner les céréales et les prairies artificielles reposent sur ce fait, démontré par la méthode synthétique, que les céréales prennent dans le sol tout leur azote, tandis que le trèfle, la luzerne, qui puisent cet élément dans l'air, demandent principalement au sol des matières minérales.

Mais la théorie chimique de la pratique agricole réside-t-elle tout entière dans les effets de ce petit nombre d'éléments salins, qui constituent jusqu'ici un engrais artificiel suffisant à développer les végétaux ? Je ne le pense pas.

Il faut certainement tenir compte, dans la théorie de la pratique agricole, de diverses circonstances secondaires, telles que les propriétés physiques du sol et du sous-sol, ainsi que l'a démontré M. Chevreul, le mode de décomposition des matières organiques, le degré d'acidité ou d'alcalinité du milieu, qui influe sur cette décomposition, la nature des combinaisons des éléments, etc., etc. : or, l'appréciation des effets de toutes ces circonstances exige l'étude complète du milieu artificiel propre au développement des végétaux. D'ailleurs, tant qu'on n'aura pas réussi à obtenir dans un milieu artificiel des plantes aussi vigoureuses que dans les terrains fertiles, certains effets du sol végétal sur les plantes échapperont forcément à la méthode synthétique. Or j'ai posé en principe que, dans l'état actuel de la science, on ne peut décider si ce progrès est réalisable.

Le système des engrais chimiques de M. G. Ville (1) est encore une application des résultats de la méthode synthétique : l'auteur emploie comme engrais en agriculture les sels mêmes dont la méthode mixte a déjà reconnu l'utilité. Mais, au lieu de prendre pour guides les résultats empiriques fournis par les sels qu'on a essayés sur diverses cultures, il appuie tout son système sur la composition même des milieux artificiels propres au développement des végétaux. Dès lors, quatre éléments : l'acide nitrique ou l'ammoniaque, l'acide phosphorique, la potasse, la chaux, ajoutés indéfiniment au même terrain en proportions variables avec chaque culture, suffisent, dans ses idées, pour remplacer tous les autres engrais, et assurer à la terre une fécondité inépuisable pour toutes les cultures.

J'ai exprimé ailleurs mon opinion sur l'usage des sels purs en agriculture. J'ajouterai qu'il ne me paraît pas bien démontré que l'azote, l'acide phosphorique, la potasse, la chaux, constituent seuls un engrais complet et suffisant. Car il est certain qu'un sol artificiel, formé de ces éléments, ne suffit point à produire d'abondantes récoltes. On répondra sans doute qu'il existe toujours dans le sol, en quantité surabondante, des éléments supplémentaires qui, avec les premiers, constituent un engrais parfait. Mais ce n'est là qu'une pure hypothèse que ne justifient pas assez les résultats obtenus par les engrais chimiques, sur quelques terres, pendant plusieurs années consécutives. Car il n'est pas impossible que le sol contienne un élément nécessaire aux végétaux, en quantité suffisante pour trois ou quatre récoltes mais insuffisante pour un plus grand nombre. Si donc cet élément n'est jamais ramené dans le sol par un moyen quelconque, il manquera forcément tôt ou tard, par l'effet de la culture, et le sol deviendra stérile. A mon avis, la méthode synthétique n'offrira une base assurée à la pratique agricole que le jour où l'on connaîtra le milieu artificiel propre à assurer le développement maximum des végétaux. Si ce but peut être atteint, et rien

(1) Voyez les *Conférences agricoles faites au champ d'expériences de Vincennes*, par M. G. Ville.

jusqu'ici ne le prouve, l'agriculture entrera d'un pas ferme dans une voie nouvelle : le praticien abandonnera l'usage ordinaire des engrais et des assolements fondé sur l'empirisme ; il cultivera indifféremment les espèces les plus profitables ; et il déterminera pour chaque plante le poids et la composition de l'engrais le mieux approprié, d'après la composition du sol et d'après la composition du milieu artificiel propre à cette plante : ainsi, il atteindra sans aucune perte le rendement maximum des récoltes. S'il veut en même temps obtenir le meilleur résultat économique, il composera ces engrais artificiels non pas exclusivement avec des sels purs, mais indifféremment avec des engrais naturels, des matières premières ou des résidus industriels, des sels chimiques même, suivant que les uns ou les autres seront économiquement plus avantageux.

Ce progrès, M. Liebig le présentait déjà en 1841, et le regardait comme un besoin de notre époque. Il en apprécia très-exactement le caractère essentiel :

« Et alors, dit-il, l'agriculteur pourra, comme dans une manufacture bien organisée, tenir des livres pour y inscrire, suivant les récoltes, la nature et la quantité exacte des substances qu'il doit porter sur chacune de ses terres pour en maintenir la fertilité (1). »

*Conclusions générales.* -- Les faits généraux dans lesquels se résume l'état de la chimie des végétaux après les nombreuses découvertes de la méthode synthétique, me paraissent assez exactement exprimés par les propositions suivantes :

Il est possible de faire développer les végétaux dans des milieux artificiels exclusivement formés de substances chimiques de composition définie.

Pour obtenir les récoltes maxima que comportent ces milieux, il est nécessaire de réunir ensemble l'oxygène, l'acide carbonique, l'eau, l'acide nitrique ou l'ammoniaque, l'acide phos-

(1) Liebig, *Chimie appliquée à l'agriculture*, p. 298.

phorique, la potasse ; car la suppression de l'un quelconque de ces éléments diminue considérablement le poids des récoltes.

Les récoltes produites par les milieux artificiels n'atteignent jamais la vigueur des récoltes des terrains naturels fertiles.

Les effets propres de l'acide carbonique, de l'eau, de l'acide nitrique, de l'acide phosphorique, de la potasse, etc., doivent être attribués respectivement : au carbone, à l'hydrogène, à l'azote, éléments essentiels des végétaux ; au phosphore, au potassium, qu'on remarque aussi dans leur organisme : c'est en dégageant une partie de leur oxygène que ces oxydes fixent dans les plantes leurs radicaux.

Plusieurs de ces radicaux interviennent en quantités fort petites par rapport au poids de plante qu'ils contribuent à former.

L'acide carbonique, l'eau, l'acide nitrique, produisent les principes ternaires et l'albumine des végétaux ; l'acide phosphorique, la potasse, etc., forment des composés encore mal déterminés.

Ces faits confirment la loi de la statique chimique qui représente les végétaux comme formés par la réduction des oxydes minéraux les plus simples ; ils la complètent en y faisant entrer de nouveaux éléments : l'acide nitrique, l'acide phosphorique, la potasse.

La méthode synthétique a encore posé les principes fondamentaux de la chimie agricole, en même temps qu'elle permet de substituer à l'empirisme des procédés rationnels d'agriculture.

La méthode analytique et la méthode mixte avaient déjà indiqué plusieurs des résultats que je viens d'énumérer, mais ces faits fort incomplets, souvent pressentis plutôt que démontrés, sans liens entre eux, sans interprétation positive, ne pouvaient servir de bases à une théorie ; au contraire, la méthode synthétique, en réduisant les phénomènes de la végétation à un petit nombre d'éléments simples, a pu en saisir toutes les relations, et jeter les fondements d'une théorie inébranlable, quoique inachevée, de la chimie des végétaux.

Aussi cette méthode, beaucoup plus parfaite que les deux pré-

cédentes, n'a reçu ses derniers perfectionnements que très-tard, puisque les travaux de MM. Boussingault et G. Ville, qui en sont l'expression la plus avancée, ont été exécutés dans ces vingt dernières années.

## CHAPITRE II.

### ÉTUDE DES VÉGÉTAUX MICROSCOPIQUES.

#### 1. — Méthode analytique.

##### *Analyse des végétaux et des milieux dans lesquels ils vivent.*

— Parmi les espèces nombreuses d'organismes inférieurs qui peuplent les matières d'origine organique abandonnées à elles-mêmes, les unes sont douées de mouvement spontané, les autres en sont dépourvues; mais au point de vue chimique ces deux classes d'êtres vivants ne diffèrent point essentiellement, et sont fréquemment en rapport; aussi, bien que j'aie surtout en vue l'étude des végétaux microscopiques, il m'arrivera incidemment de parler des animalcules.

Dans les études chimiques relatives aux grands végétaux, on a suivi le développement d'un petit nombre d'individus d'espèce connue; il n'en est plus de même ici: les recherches chimiques ont pour objet les phénomènes qui résultent de l'apparition dans un milieu d'un nombre immense d'individus d'espèces différentes qui ne peuvent être déterminées à première vue; cependant on doit se préoccuper avant tout de reconnaître l'espèce du végétal qu'on étudie, parce que les phénomènes chimiques de la vie varient avec l'espèce: l'examen microscopique du végétal offre pour cette détermination des caractères simples et précis.

C'est par ce moyen qu'on a étudié les variations nombreuses des espèces qui vivent dans les milieux naturels. Elles changent avec la nature du milieu: le pain humide se couvre ordinairement de Mucédinées; les liquides alcooliques de Mycodermes; les infusions de feuilles et de foin se peuplent d'Animalcules; la Torulacée qui naît dans le jus du raisin diffère de celle qu'on observe souvent dans l'urine en putréfaction. Les organismes ne sont pas les mêmes aux divers points d'un même milieu: à la

surface on pourra observer des Mycodermes ; dans la masse des Animalcules ; au fond des Torulacées. Ils varient encore avec le temps : ainsi, dans une infusion de foin, naîtront successivement des monades, des vibrions et des bactéries ; puis des infusoires ciliés, et à la surface des moisissures. Mais ce qu'il faut remarquer principalement, c'est que généralement une substance organique est peuplée en même temps par des organismes très-nombreux et très-divers.

La composition chimique des végétaux microscopiques rappelle celle des grands végétaux : la levûre de bière, le plus simple de ces organismes, est formée principalement de cellulose, de matières albuminoïdes, de matières grasses, d'après les analyses de M. Payen. Les cendres de ce végétal, examinées par Mitscherlich, lui ont fourni de l'acide phosphorique et de la potasse en abondance, moins de magnésie, très-peu de chaux, et une quantité de soude inappréciable (1).

Ces résultats n'ont rien qui doive nous surprendre, puisque les êtres microscopiques respirent le même air que les grands végétaux, puisqu'ils vivent soit dans les substances mêmes de ces végétaux, soit dans les matières animales qui en sont formées : cette remarque indique assez quelle est la composition des milieux où se développent les organismes inférieurs, et il ne me reste plus, pour les faire connaître complètement, qu'à parler des curieuses transformations qu'ils subissent lorsque, abandonnés à eux-mêmes, ils se peuplent d'êtres vivants.

Qu'une matière organique abandonnée à elle-même dégage de l'eau, de l'acide carbonique ou même de l'oxygène, on n'en sera nullement surpris ; on comparera immédiatement ces produits à ceux de la respiration des animaux ou des plantes, et on les rapportera, par analogie, à la vie des organismes.

Mais les chimistes ont été singulièrement frappés de voir les matières organiques donner souvent naissance à divers composés chimiques très-différents des éléments respiratoires : ils ont appelé ces phénomènes fermentations, et lorsque les fermentations

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LVIII, p. 374.

ont manifesté une odeur fétide, ils les ont mises à part sous le nom de fermentations putrides ou putréfactions ; ces définitions reposent du reste sur des caractères purement extérieurs, et ne prétendent pas pénétrer la nature intime des phénomènes.

Certaines matières organiques fournissent, dans leur fermentation naturelle, des produits constants et en petit nombre. Comme exemples de ces phénomènes, je citerai : la fermentation alcoolique des jus sucrés caractérisée par la formation de l'alcool ; la fermentation acétique des liquides alcooliques qui produit de l'acide acétique ; la fermentation gallique qui forme l'acide gallique obtenu par Scheele dans le pourrissage de la noix de galle ; la fermentation ammoniacale qui développe dans l'urine de l'ammoniaque, et sur laquelle Boerhaave appela le premier l'attention des chimistes ; etc., etc.

Il est rare d'ailleurs que plusieurs de ces composés n'apparaissent pas dans le même milieu, et alors la fermentation, plus ou moins complexe, est en même temps très-variable. C'est ainsi que M. Béchamp a trouvé dans l'urine putréfiée : de l'alcool, de l'acide acétique, du carbonate d'ammoniaque, etc. (1).

L'étude immédiate de la fermentation consiste à rechercher l'équation qui lie les composés du milieu qui se transforment aux produits de la transformation. La comparaison des formules et le dosage des composés du milieu, la connaissance de leurs réactions chimiques particulières, peuvent, dans les cas de fermentations simples, conduire à cette équation. Mais dans le cas général, lorsque le milieu qui fermente est complexe, lorsque les produits de la transformation sont nombreux, outre que les éléments gazeux de la réaction échappent à l'analyse, les autres sont difficiles à atteindre, et éminemment variables d'un essai à un autre ; dès lors l'équation qui unit tous ces éléments reste indéterminée : aussi tant qu'on se sert exclusivement de la méthode analytique, les équations de la plupart des fermentations furent incertaines ou incomplètes.

*Des relations des végétaux microscopiques avec les éléments du*

(1) *Comptes rendus*, t. LXXI, p. 374

*milieu où ils vivent.* — Je vais, en m'appuyant sur les résultats qui précèdent, rechercher les relations qui existent entre le végétal et le milieu qui l'entoure.

La méthode analytique ne peut, en général, nous conduire qu'à des hypothèses sur l'origine des corps simples essentiels aux végétaux microscopiques : tout ce qui a été dit à cet égard sur les grands végétaux s'applique ici sans restriction.

Les végétaux inférieurs, si éloignés par la simplicité de leur structure cellulaire de la complication anatomique des végétaux supérieurs, nous ont présenté avec eux une analogie frappante sous le rapport de la composition chimique : les corps simples nécessaires ou utiles à ces deux groupes d'êtres organisés sont donc probablement les mêmes pour la plupart ; le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote en sont les éléments essentiels : le phosphore et le potassium sont sans doute après eux les plus importants. Le rôle de ces éléments est aussi très-analogue dans les grands et dans les petits végétaux, puisque parmi leurs principes immédiats nous voyons de part et d'autre figurer au premier rang la cellulose, la graisse, l'albumine. Toutefois, par leur richesse en matières albuminoïdes, les végétaux microscopiques se rapprocheraient davantage des animaux. Mais les déductions de l'analyse relatives à ces petits végétaux comportent les restrictions signalées dans l'étude des grands végétaux, ou même des restrictions encore plus sérieuses, car la similitude de composition des végétaux microscopiques et de leur milieu nutritif peut faire craindre que l'*absorption physique* n'ait une part considérable dans la composition chimique de ces végétaux.

Parmi les éléments nécessaires au développement des végétaux supérieurs se place en première ligne la *graine*, tandis que les organismes microscopiques présentent cette particularité, qu'ils apparaissent naturellement dans des milieux dans lesquels on n'aperçoit pas le moindre germe : aussi a-t-on supposé qu'ils peuvent s'en passer.

L'hypothèse de la génération spontanée semble encore confirmée par l'étude des variations des espèces vivantes dans les milieux d'origine organique : n'avons-nous pas vu que ces

espèces sont en relation avec la nature chimique des milieux, avec la position qu'elles occupent dans ces milieux, avec les autres espèces qui les ont précédées? Or la nature des germes d'un milieu ne saurait être liée à ces conditions; on est donc conduit à admettre que les organismes inférieurs peuvent se former sans germes par les substances inorganisées. La succession d'espèces différentes dans un même milieu offre surtout un argument spécieux; car pour peu que l'imagination s'y prête, l'observateur se persuadera qu'il voit les organes de nouvelles espèces naître de ceux des espèces qui les ont précédées, et il conclura à la transformation des organismes les uns dans les autres. C'est ainsi que Turpin a vu les globules du lait s'allonger pour former le mycélium du *penicillium* (1), que M. Pouchet a vu le mouvement fermentescible des infusions organiques provoquer la formation des monades, vibrions, bactéries, etc., de la membrane prolifère, puis ces petits êtres se rassembler pour former l'œuf spontané d'où naissent les infusoires ciliés (2).

Cherchons à interpréter rigoureusement ces faits: ils prouvent qu'il y a une relation entre le développement d'une espèce dans un milieu et la nature chimique de ce milieu, les rapports du milieu avec l'atmosphère, la nature des espèces qui y ont vécu précédemment; mais ils ne prouvent rien de plus.

Or, toutes les relations de ce genre empêchent-elles ces êtres vivants d'avoir une relation nécessaire avec le germe, élément indépendant de ceux que j'ai indiqués? Évidemment non. N'est-il pas de même des végétaux supérieurs? N'exigent-ils pas, pour se développer, de certains milieux, de certaines conditions atmosphériques, etc., variables d'une espèce à une autre? Et pourtant personne ne songe à contester pour ces êtres l'absolue nécessité d'un germe.

La méthode analytique conduit donc scientifiquement à l'hypothèse des *générations spontanées*, mais elle laisse la question

(1) *Comptes rendus*, 1837, t. V, p. 822.

(2) Pouchet, *Hétérogénéité, ou Traité de la génération spontanée*, 1859, et *Comptes rendus*, t. LIX, p. 277.

indécise : cette méthode que d'ingénieux naturalistes ont cru devoir substituer à la méthode expérimentale, afin de ne pas altérer par les opérations artificielles le jeu des forces de la nature, ne saurait nous éclairer sur l'intervention du germe dans les phénomènes de la vie, parce qu'elle n'atteint directement que des éléments sans aucune relation avec le germe.

La méthode analytique nous révèle très-distinctement deux ordres de phénomènes au sein des milieux organiques abandonnés à eux-mêmes : la transformation d'une partie des substances qui les composent dans les produits de la fermentation et la participation d'une autre partie à la formation des organismes vivants. Suivre dans tous leurs détails ces métamorphoses multiples est un travail fort délicat qui exige des ressources supérieures à celles de la méthode analytique. Mais toutes ces recherches sont subordonnées à cette question fondamentale : Existe-t-il une relation entre la transformation des substances d'un milieu par fermentation, et le développement des organismes dans ce milieu, ou bien ces deux phénomènes sont-ils indépendants? La solution de ce problème n'est pas du ressort de l'analyse. Cependant les variations sans nombre des produits de la fermentation d'un milieu à un autre, les variations non moins grandes des espèces vivantes de ces milieux, sembleraient écarter l'idée d'une relation quelconque entre les phénomènes de la vie et les fermentations.

*Applications de la méthode analytique.* — Un grand nombre d'applications pratiques se rattachent aux résultats qui précèdent.

La fabrication des liquides alcooliques, du vinaigre, du fromage, de l'acide gallique, de l'acide lactique, le traitement des engrais organiques, etc., reposent sur la production de composés spéciaux par la fermentation.

Certaines maladies épidémiques des végétaux ou des animaux appartiennent encore à l'ordre des phénomènes que nous venons d'étudier : je veux parler de ces maladies qui sont caractérisées par une altération des matières de l'organisme, c'est-à-

dire par une transformation de certains composés en d'autres composés, et par un développement simultané d'êtres organisés microscopiques dans les substances en voie d'altération. La muscardine des vers à soie, l'oïdium de la vigne, la maladie des pommes de terre, etc., sont des exemples bien remarquables de ces épidémies. A combien de recherches, inspirées par la méthode analytique, la maladie de la vigne et celle des pommes de terre n'ont-elles pas donné lieu (1)? Cependant à quel résultat scientifique ont abouti toutes ces observations, sinon à des hypothèses, à des discussions qui avaient invariablement pour point de départ cette question : L'altération du végétal est-elle l'effet ou la cause du développement des organismes? Question oiseuse et vague issue de notions très-fausSES sur la nature de ces problèmes. Car les causes et les effets, ou plus exactement les forces et les mouvements, *dans les phénomènes de chimie et de physiologie*, échappent à l'observation. Ce que l'expérience peut atteindre, ce sont les phénomènes, et les circonstances de ces phénomènes. Voici donc la question fondamentale à résoudre relativement à ces maladies : Existe-t-il une relation nécessaire entre la transformation des substances de l'être malade en d'autres substances, et le développement du parasite. Nous sommes ainsi ramenés à une question que nous avons formulée précédemment, et que la méthode analytique est impuissante à résoudre.

*Caractères de la méthode analytique.* — En résumé, la méthode analytique se retrouve ici avec les caractères qu'elle nous a offerts dans l'étude des grands végétaux : elle est apte à nous révéler des faits intéressants ; mais elle ne peut réussir à en saisir les rapports certains et par suite à fonder une théorie chimique du développement des organismes vivants.

(1) Voyez les *Comptes rendus*, principalement : t. XXI, 1845 ; t. XXII, 1846 t. XXIII, 1846 ; et aussi : t. XXXIII, 1854 ; t. XXXVI, 1853 ; t. XXXVII, 1853 ; t. XXXVIII, 1854 ; t. XXXIX, 1854 ; t. XI, 1855 ; t. XII, 1855.

II. — Méthode mixte.

Dans les études qui se rattachent à cette méthode, on a fait vivre invariablement les organismes microscopiques dans des substances animales ou végétales : c'est en faisant varier arbitrairement les autres éléments de la végétation, qu'on a pu apprécier l'influence de chacun d'eux sur les phénomènes de la vie.

*Intervention nécessaire du germe dans la formation des êtres organisés inférieurs.* — Parmi ces éléments, le germe se place en première ligne : si des savants distingués ont soutenu que la matière peut s'organiser sans germe, c'est qu'ils ont trouvé dans l'application de la méthode mixte des faits nombreux, qui leur ont paru inconciliables avec l'intervention de cet agent mystérieux : ce sont ces faits que je vais exposer sommairement.

On sait la controverse mémorable à laquelle Spallanzani et Needham, au xviii<sup>e</sup> siècle, consacrèrent leurs efforts dans le but d'éclairer la question de la génération des êtres (1). Les expériences sur lesquelles était fondée cette controverse s'accordèrent toutefois en un point : c'est que les organismes du dernier ordre peuvent apparaître dans des infusions en vases clos chauffées pendant une demi-heure à la température de l'ébullition. Plus tard, Schwann, Schultze, Schræder et Dusch reprirent ces expériences dans de meilleures conditions (2) : ils soumièrent des liquides organiques à une ébullition prolongée, mais ils eurent soin de restituer à ces liquides l'air atmosphérique indispensable à l'entretien de la vie, après l'avoir fortement chauffé ou après l'avoir fait passer à travers la potasse, l'acide sulfurique ou le coton. Quelque traitement que l'air eût subi, les infusions furent quelquefois fécondes. Plus récemment, M. Pouchet (3) présenta à l'appui de la doctrine de l'hétérogénie un ensemble d'expé-

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LXIV, p. 7.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LXIV, p. 14.

(3) Pouchet, *Hétérogénie, ou Traité de la génération spontanée*, 1859.

riences variées et ingénieuses qui rappelèrent d'une façon inattendue l'attention des savants sur ce problème. Or il confirma par ses observations personnelles les résultats de Schwann, Schultze, etc., sur la fécondité des liquides chauffés en vases clos. C'est donc un fait constant que des organismes peuvent apparaître dans des milieux dont les éléments ont été chauffés à 100 degrés, ou soumis aux réactifs les plus énergiques, ou filtrés sur le coton : l'hypothèse que des germes ont pu pénétrer et rester intacts jusque dans ces milieux, n'est-elle pas en contradiction avec les propriétés connues des germes ordinaires ?

M. Pouchet a étudié également l'influence de l'air naturel ou de matières organiques naturelles, nullement modifiés, sur le développement des germes dans un milieu, et des faits observés il a tiré, à l'appui de l'hétérogénie, d'autres arguments moins directs, mais non moins graves, qui ont pour point de départ une expérience de Gay-Lussac, devenue célèbre :

Gay-Lussac (1) a constaté qu'un grain de raisin, placé dans une cloche exactement remplie de mercure, et écrasé ensuite, ne fermente pas ; mais vient-on à introduire dans la cloche la moindre bulle d'air, la fermentation se développe, et alors seulement, la levûre alcoolique s'organise. Les partisans de la génération par germe expliquaient ce phénomène en disant que le grain de raisin est dépourvu du germe de la levûre, et que, la bulle d'air apportant ce germe avec elle, la levûre du vin se développe : cette interprétation paraissait seule rationnelle.

Si la moindre bulle d'air contient des germes de la levûre alcoolique, on ne peut guère se refuser à admettre qu'elle contient aussi des germes d'une foule d'autres espèces microscopiques qui peuplent les infusions aussi fréquemment que la levûre. M. Pouchet (2) vérifia d'ailleurs cette conséquence en prouvant que des infusions diverses, fortement chauffées et abandonnées pendant quelques jours à l'air libre, se peuplent bientôt d'une foule d'organismes d'espèces variées. Or si l'atmosphère contenait, dans chacune de ses moindres parties, les germes de

(1) *Annales de chimie*, t. LXXVI, p. 250.

(2) Pouchet, *Hétérogénie, ou Traité de la génération spontanée*.

toutes ces espèces, il devrait être assez imprégné de ces corpuscules pour en être obscurci. Au reste, parmi les germes des êtres inférieurs, il en est qui sont facilement reconnaissables au microscope. Or, M. Pouchet recueillit, par un procédé qui lui est propre, les poussières de l'air, et affirma n'y avoir rien découvert qui ressemblât à des germes. Comment expliquer ces contradictions issues de l'hypothèse de l'intervention des germes dans la vie des petits organismes?

D'après l'expérience de Gay-Lussac généralisée, les substances organiques naturelles doivent être à peu près dépourvues de germes. Comment donc un liquide naturel, mis en contact avec de l'air calciné, peut-il donner naissance à tant d'espèces différentes? D'autre part, si une bulle d'air contient un si grand nombre de germes, et si un liquide organique en est à peu près dépourvu, comment arrive-t-il, ainsi que l'a fort bien reconnu M. Pouchet, que les espèces vivantes sont plus nombreuses, se développent plus rapidement, à l'air libre, dans un liquide non chauffé que dans un liquide chauffé?

MM. Joly et Musset ont encore étudié l'influence de l'air et des liquides naturels simplement filtrés sur le développement des êtres inférieurs (1) : ils ont puisé directement ces substances dans l'organisme des animaux ou des végétaux, qu'ils ont considérés comme les filtres les plus parfaits qu'on puisse réaliser : cependant ils ont encore vu se produire dans ces conditions des organismes vivants. N'est-il pas bien singulier que des germes puissent traverser ainsi les organes des animaux ou des végétaux?

Sans doute ces objections ne restèrent pas sans réponse; mais on ne parvint à les réfuter qu'à l'aide d'hypothèses aussi peu satisfaisantes que celle qu'il s'agissait de renverser. M. Pasteur comprit que le seul moyen d'éclairer la question consistait à reprendre les expériences qui précèdent par des méthodes plus sévères (2).

A l'aide d'un appareil commode et sûr tout à la fois, M. Pasteur étudia à nouveau le développement des organismes en vases

(1) *Comptes rendus*, t. LI, p. 627 ; t. LIII, p. 369.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LXIV, p. 5.

clos, dans des liquides chauffés en contact avec de l'air calciné. L'eau de levûre, chauffée à 100 degrés, ne produisit pas d'organismes. Le lait en produisit dans les mêmes conditions, mais devint stérile à 110 degrés. Ces liquides, par le contact du mercure des laboratoires, se peuplèrent d'êtres vivants. D'ailleurs, les substances rendues stériles par la chaleur redevenaient propres au développement de la vie lorsqu'on y introduisait des germes de végétaux ou d'animalcules. Ainsi, M. Pasteur obtint encore des organismes dans les milieux chauffés, mais il en trouva la cause dans un principe de poids inappréciable, mêlé au mercure ou aux liquides naturels, et capable de résister à la chaleur jusqu'à 110 degrés. Et lorsque M. Pasteur eut démontré que des spores de Mucédinées peuvent rester fécondes après avoir été chauffées à 120 degrés, il n'y eut plus de difficulté à admettre que ce principe pouvait être un germe.

Les causes d'erreur des expériences qui ont précédé celles de M. Pasteur sur l'apparition des organismes en vases clos dans les milieux chauffés, résident donc dans la manipulation des substances sur le mercure et l'emploi d'une température insuffisante. En tenant compte de ces causes d'erreurs, on obtient des résultats en complet accord avec l'hypothèse de l'intervention nécessaire des germes dans l'organisation de la matière.

On ne saurait douter de l'exactitude de l'expérience de Gay-Lussac; mais cette expérience réussit parfaitement avec une bulle d'air calciné. C'est donc par quelque effet de son oxygène que l'air agit dans cette circonstance, et non, comme on l'avait supposé, par les germes de levûre qu'il peut contenir. Ainsi, l'expérience de Gay-Lussac a été mal interprétée. Les conséquences que nous en avons tirées sur la distribution des germes dans l'atmosphère et dans les liquides naturels ne sont donc point fondées, et ce point ne peut être éclairé que par des expériences directes.

Pour reconnaître le mode de dissémination des germes dans l'atmosphère, M. Pasteur eut l'idée d'ouvrir en un même lieu un grand nombre de ballons vides d'air, et partiellement remplis d'un liquide chauffé, qu'il fermait ensuite à la lampe. Il re-

connut qu'une partie des ballons ouverts en un lieu quelconque reste stérile, que la proportion des ballons dont le liquide demeuré inaltéré augmente à mesure qu'on s'élève, à mesure que l'air est moins agité (1). Les résultats furent confirmés, d'une manière frappante, par l'ingénieuse expérience des ballons à cols sinueux. On peut donc prélever dans l'atmosphère d'un lieu des volumes d'air très-appreciables qui soient incapables de féconder des liqueurs rendues stériles par la chaleur : le principe de l'air qui ramène la vie dans ces liqueurs est discontinu ; c'est un corps fixe extrêmement petit, qui obéit aux lois ordinaires de la pesanteur. Dans l'hypothèse des germes, nous établissons ainsi que l'air contient ces germes disséminés çà et là, au lieu d'admettre qu'il en est encombré.

Mais alors pourquoi M. Pouchet n'a-t-il pas pu en découvrir directement ? M. Pasteur, de son côté, a également recueilli les poussières de l'atmosphère (2), en évitant les causes d'erreur du procédé de M. Pouchet, et parmi les corps inorganisés qui composent presque entièrement ces poussières, il a découvert des organismes tout à fait semblables aux spores des petits végétaux. Bien plus, M. Duclaux a maintenu ces organismes sous le microscope dans des liquides appropriés, et il les a vus germer (3). Dans l'hypothèse de l'intervention des germes dans l'organisation des êtres, tous ces faits ne présentent-ils pas un accord admirable ?

S'il y a des germes dans l'air en petit nombre, les substances organiques naturelles qui ont séjourné dans l'air doivent nécessairement en contenir un plus grand nombre, et l'on comprend pourquoi ces substances se montrent fécondes dans l'air calciné, et pourquoi dans l'air naturel elles sont plus riches en espèces variées que des substances identiques préalablement chauffées. Au reste, l'existence des germes qui imprègnent ces substances n'est plus douteuse depuis les intéressantes

(1) *Comptes rendus*, t. LI, p. 348 et p. 675.

(2) *Comptes rendus*, t. I, p. 304.

(3) *Comptes rendus*, t. LVI, p. 1225.

observations de M. Coste (1), qui a recueilli sur du foin des kystes d'infusoires ciliés et a suivi leurs évolutions dans des liqueurs nutritives.

Enfin il est démontré aujourd'hui qu'on peut rendre stériles les substances organiques naturelles les plus altérables en les filtrant avec beaucoup de soin : M. Pasteur a pu conserver intact, en présence de l'air calciné, du sang naturel, extrait directement des organes (2). M. Donné n'est point parvenu à obtenir d'organismes dans les œufs tant qu'il n'a point pratiqué d'ouverture dans l'enveloppe : cependant, les œufs contiennent une substance très-altérable et de l'oxygène sans cesse renouvelé, grâce à la porosité de l'enveloppe (3). Ainsi, dans des liquides naturels des plus putrescibles, en contact avec de l'air naturel, c'est-à-dire dans les circonstances qui paraissent les plus favorables à l'hétérogénie, la vie ne peut se manifester ; elle exige la présence dans ces milieux de corpuscules solides. Ce dernier résultat n'est-il pas en parfaite harmonie avec l'hypothèse de la nécessité des germes pour l'organisation de la matière ?

Avant de rien conclure de cette seconde série d'expériences, il importe de rechercher si, *à part toute interprétation*, les résultats en sont exacts, ou bien s'ils ne sont point entachés *d'erreurs d'expérimentation*.

Ces expériences appartiennent pour la plupart à M. Pasteur : exécutées avec des précautions infinies, elles ont conduit à des résultats entièrement concordants ; d'autre part, ceux de ces résultats sur lesquels reposent les arguments contraires à l'hétérogénie ont été *négatifs* : or, il me paraît impossible d'indiquer quelque *faute de manipulation* capable de rendre les liqueurs stériles alors qu'elles devraient être fertiles. Les résultats dont je parle, en tant que faits matériels, présentent donc toutes les garanties d'exactitude.

Mais, dans cet ensemble de faits, on n'a pas signalé jusqu'ici une seule contradiction avec l'hypothèse de l'intervention

(1) *Comptes rendus*, t. LIX, p. 149.

(2) *Comptes rendus*, t. LXI, p. 734.

(3) *Comptes rendus*, t. LXII, p. 448.

d'un germe pour provoquer l'apparition de la vie. D'ailleurs, M. Pasteur n'a fait que reproduire les expériences des partisans de l'hétérogénie, sans en changer les conditions essentielles, mais en tenant compte des causes d'erreurs manifestes qu'elles renfermaient. Il a donc réduit à néant toutes les contradictions qui semblaient exister entre les faits observés et l'intervention du germe dans la formation des organismes inférieurs.

Si tous les faits sont d'accord avec le principe de la génération par germes aussi bien qu'avec celui de la génération spontanée, nous n'avons pas à hésiter : il serait illogique d'opter pour la génération spontanée ; car, dans les théories physiques, on doit chercher à ramener les phénomènes à des lois de moins en moins nombreuses, et c'est un progrès que de rattacher tout un ordre de faits à une loi connue, au lieu de créer pour lui une hypothèse nouvelle. C'est ce genre de progrès qu'a réalisé M. Pasteur.

Mais ses expériences ont une plus haute portée.

Traduisons les résultats de ces expériences dans la théorie de la *génération ordinaire* : M. Pasteur suppose que partout où se développe une espèce quelconque d'organisme, là existe un germe de cette espèce ; par ses expériences successives, il détermine indirectement certaines propriétés de ce germe : résistance à la chaleur, mode de dissémination dans l'air et dans les divers milieux, caractères physiques, etc., et toutes ces propriétés s'accordent avec celles qui résultent de l'observation directe : cependant l'hypothèse fondamentale subsiste, se fortifie, se précise de plus en plus, sans qu'il soit nécessaire de lui adjoindre quelque nouvelle hypothèse.

Essayons de traduire les mêmes résultats dans la théorie de la *spontéparité*. L'aptitude de la matière *inorganisée*, qui contient les éléments essentiels des êtres vivants, à créer *sans germe* des organismes, voilà l'hypothèse fondamentale. Pour expliquer l'action de la chaleur sur le développement des organismes, M. Pouchet lui-même est obligé de restreindre la première hypothèse par une seconde, et d'admettre que la génération ne se développe spontanément que dans la matière qui a eu vie, et à

la condition qu'elle ne soit pas trop modifiée par la chaleur, les réactifs chimiques, etc. (1). Mais les résultats des expériences avec de l'air atmosphérique limité, avec des liquides puisés directement dans l'organisme, appellent impérieusement une troisième hypothèse : pour que les substances naturelles, même les mieux appropriées à la vie, même celles qui n'ont point été modifiées artificiellement, produisent des organismes, il faut qu'elles contiennent des corpuscules solides, de poids très-faible, altérables par la chaleur, insaisissables, et qui ne sont point des germes (2).

Ainsi, je vois d'un côté l'hypothèse d'un *élément* (le germe), dont l'expérience ne fait que déterminer de plus en plus les propriétés naturelles, sans que le principe fondamental et les observations soient jamais en désaccord. Je vois d'autre part une hypothèse qu'il est nécessaire de restreindre, à mesure que l'on avance, par des hypothèses nouvelles. Cette comparaison de la marche progressive des deux théories ne parle-t-elle pas assez haut en faveur de la première ? En physique, n'est-ce pas sur des caractères de ce genre que l'on s'appuie ordinairement pour prononcer en dernier ressort sur la valeur relative de deux théories opposées ?

Après cela, peut-on démontrer directement qu'il n'existe point de génération spontanée ? Évidemment non. Mais qu'importe ? L'observation directe des éléments mêmes de la génération nous échappe : les faits extérieurs qui en résultent, les lois qui représentent ces faits, voilà ce que l'expérience peut atteindre, voilà ce qui importe en réalité. Il n'en est pas autrement dans les recherches les plus élevées de la *Physique*, et M. Pasteur a eu le mérite d'étendre les plus rigoureuses méthodes de cette *Science* à un *Problème* qui semblait relégué dans le domaine de l'imagination.

La question de la génération des êtres vivants est à peu près épuisée ; mais elle peut renaître indéfiniment : il suffit, pour qu'elle se pose à nouveau, qu'un expérimentateur, imitant en

(1) Pouchet, *Hétérogénie, ou Traité de la génération spontanée*, p. 335.

(2) *Annales de chimie et de physique*, t. LXIV, p. 70.

cela MM. Pouchet, Joly et Musset, reproduise dans des conditions nouvelles quelques-unes des expériences de M. Pasteur, et qu'à la place des *résultats négatifs* de ce savant, il obtienne des *résultats positifs* (1). Avant de rechercher si les conditions de ces nouvelles expériences ne cachent pas de causes d'erreurs, il faudrait examiner si les résultats eux-mêmes ne peuvent pas être attribués à quelque *faute d'expérimentation*. Or il est établi aujourd'hui qu'il existe dans les vases, dans les liquides naturels, dans l'air, etc., des principes imperceptibles qui suffisent à développer des organismes dans les liquides appropriés à la nutrition de ces êtres ; ces principes peuvent donc toujours, par les *fautes d'opération* les plus insaisissables, se glisser, à l'insu de l'expérimentateur, dans les milieux des expériences. Ils constituent alors une cause d'erreur suffisante pour expliquer les résultats, *lorsqu'ils sont positifs*. Ceux-ci, tant qu'ils n'ont pas été contrôlés par de nombreuses expériences de vérifications, ne sont donc pas réellement en contradiction avec la théorie de la génération par germes.

*Des circonstances chimiques et physiques nécessaires au développement des êtres inférieurs.* — Les substances chimiques dont le concours assure le développement des êtres inférieurs sont l'eau, une matière organique, l'oxygène de l'air. La nécessité de l'eau ne saurait être douteuse. La nécessité d'une *substance animale* ou *végétale* résulte des plus simples observations ; car l'eau ordinaire produit peu d'organismes, et elle en engendre de moins en moins à mesure qu'elle devient plus pure. L'intervention de l'*oxygène de l'air*, moins manifeste, n'est pas moins essentielle ; car il y a longtemps que de Saussure a remarqué qu'une plante flétrie, dans l'air humide, se couvre constamment de moisissures, mais n'en prend point dans le gaz azote, et que les moisissures, une fois formées, ne font aucun progrès dans un gaz entièrement dépouillé d'oxygène (2). D'après l'expérience de Gay-Lussac, les organismes désignés sous le nom de *ferments*

(1) *Comptes rendus*, t. LVII, p. 558 ; t. LV, p. 486.

(2) Th. de Saussure, *Recherches chimiques sur la végétation*, p. 196.

paraissent avoir besoin d'oxygène pour commencer à se développer ; mais ils peuvent sans ce gaz continuer à se propager dans un milieu qui en renferme déjà quelques-uns.

Le degré d'*acidité* ou d'*alcalinité* des milieux exerce sur le développement des organismes une influence considérable. Dutrochet (1) a remarqué que les végétaux inférieurs ne se développent pas dans des milieux trop acides ou trop alcalins, et que la nature de ces végétaux paraît varier avec les propriétés acides ou alcalines des liqueurs. MM. Andral et Gavarret (2) précisèrent ces observations en un point : ils obtinrent d'une façon constante des moisissures dans le sérum du sang, le blanc d'œuf, etc., en acidifiant légèrement ces liquides. Mais c'est M. Pasteur qui a déterminé le sens général de ces influences : il a reconnu qu'un certain état d'acidité ou d'alcalinité du milieu organique favorise au plus haut degré le développement d'une espèce déterminée ; et que cet état est variable d'une espèce à une autre. Ainsi, dans les liqueurs acides, les Mucédinées et les Mycodermes prédominent ; les végétaux-ferments se plaisent dans les liquides à peu près neutres ; les infusoires s'accoutument mieux d'un liquide alcalin. Le même chimiste, dans ses travaux sur les êtres inférieurs, a continuellement mis à profit ces propriétés pour obtenir à volonté telle ou telle espèce vivante à l'exclusion des autres (3).

Il faut encore ajouter aux circonstances essentielles du développement des êtres inférieurs la *température* du milieu qu'ils habitent : 10 degrés et 45 degrés, voilà en général les limites extrêmes au delà desquelles la vie de ces petits êtres cesse de se manifester.

Un germe, de l'eau, de l'oxygène, une matière organique naturelle, un certain degré d'acidité ou d'alcalinité du milieu, une température convenable, telles sont donc les principales conditions du développement d'une espèce organisée dans un milieu défini.

(1) *Annales des sciences naturelles*, 2<sup>e</sup> série, t. I, p. 436.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. VIII, p. 385.

(3) *Ibid.*, 3<sup>e</sup> série, t. LII, p. 404.

*Relations entre le développement des êtres vivants et les transformations chimiques des milieux qu'ils habitent, ou théorie des fermentations.* — Il nous reste à étudier les transformations chimiques des substances organiques ou les *fermentations* qui accompagnent généralement l'organisation de la matière dans les milieux naturels. Ces transformations nous intéressent moins ici par elles-mêmes que par les relations qu'elles peuvent présenter avec les organismes vivants qui se développent parallèlement dans les mêmes milieux ; la détermination de ces relations, ou, en d'autres termes, la théorie des fermentations doit être fondée sur la recherche des conditions essentielles de ces métamorphoses : la méthode mixte, en faisant varier tour à tour les diverses circonstances de ces phénomènes, va nous conduire directement à ce but.

Lorsque l'observation nous eut appris que certaines substances naturelles abandonnées à elles-mêmes donnent naissance d'une manière assez constante à des composés spéciaux ; lorsque l'analyse eut mis les chimistes sur la trace des principes immédiats qui prennent part à ces transformations, on chercha à reproduire artificiellement ces phénomènes en mettant ces principes dans des conditions convenables. C'est la fermentation alcoolique, tant par son importance que par la facilité avec laquelle elle peut se reproduire identique à elle-même, qui a le plus excité la curiosité des savants et qui a été le point de départ de toute recherche sur les autres fermentations.

Dès la fin du siècle dernier on savait, principalement par les expériences de Fabroni, que le sucre subit la fermentation alcoolique par le contact de diverses substances organiques naturelles, telles que la levûre de bière, des fleurs, des feuilles, etc. Plus tard Colin ajouta à ces substances la pâte de farine, le gluten, la viande, le blanc d'œuf, le fromage, l'urine, etc. (1). On réussit également à produire d'une façon régulière d'autres fermentations, en mêlant au corps fermentescible des matières analogues dans des conditions convenables.

(1) *Annales de chimie et de physique*, t. XXVIII, p. 428.

Ce qui parut le plus remarquable dans tous ces faits, c'est le caractère commun à toutes les matières complexes qui produisent les fermentations : aussi Fabroni (1) posa-t-il en principe que la fermentation alcoolique consiste dans le dédoublement du sucre sous l'influence d'une matière végéto-animale semblable au gluten de Bercari, et il assimila à la fermentation alcoolique toutes les autres fermentations. Les chimistes qui s'occupèrent de ce sujet depuis Fabroni jusqu'à M. Berthelot (2) adoptèrent cette idée fondamentale en la précisant, en la généralisant, et peu à peu il fut établi que les fermentations ordinaires *consistent dans le dédoublement d'un composé par l'influence d'une substance organique azotée* : ce principe n'était du reste que la traduction littérale d'un certain nombre de faits. Mais ce genre de réaction, dont on n'apercevait pas le mécanisme, présentait ce caractère singulier : que le composé qui se modifiait et les produits de la réaction formaient entre eux une équation complète, et que la matière albuminoïde, dont l'intervention était reconnue nécessaire, ne paraissait point se transformer. *On admit donc que la matière azotée reste inaltérée, tout en produisant le dédoublement du composé fermentescible*, phénomène que Fabroni rapprocha de la décomposition d'un carbonate par un acide, et que Berzelius, sans l'expliquer davantage, rendit du moins vraisemblable en le faisant rentrer dans la classe des phénomènes catalytiques (3).

Cependant Thenard (4) avait depuis longtemps affirmé que la levûre de bière, mise en contact avec le sucre, diminue de poids et perd de l'azote, et plus tard Dæbereiner retrouva cet azote à l'état d'ammoniaque dans le liquide fermenté. C'est pour expliquer les faits de ce genre que M. Liebig modifia la théorie du contact (5). Dans son opinion, la substance fermentescible

(1) *Annales de chimie*, t. XXXI, p. 299.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. I, p. 322.

(3) Berzelius, *Traité de chimie: Fermentation vineuse*.

(4) *Annales de chimie*, t. XLVI, p. 294.

(5) Liebig, *Chimie organique appliquée à la physiologie végétale*, p. 224, et *Lettres sur la chimie*, 16<sup>e</sup> et 28<sup>e</sup> lettres.

ne se transforme qu'autant que la matière azotée se décompose parallèlement.

D'autre part, M. Liebig attribua le résultat de l'expérience de Gay-Lussac, et le fait de la conservation des matières organiques par le procédé d'Appert, à la nécessité de l'oxygène pour commencer la décomposition du ferment azoté. C'est par ces principes que l'illustre chimiste allemand rendit compte des phénomènes de fermentation, de putréfaction, de combustion lente, de contagion, etc. : il en rapporta la cause intime à l'ébranlement moléculaire qu'une substance en décomposition communique à d'autres substances avec lesquelles elle est en contact.

MM. Fremy et Boutron (1) complétèrent cette théorie en admettant que le même ferment peut, suivant le degré de décomposition auquel il est parvenu, devenir tour à tour ferment alcoolique, lactique, butyrique, etc. : ils exprimaient ainsi le fait de l'apparition successive de l'alcool, de l'acide lactique, de l'acide butyrique, etc., dans des liquides abandonnés à eux-mêmes.

De 1835 à 1837, Cagniard de Latour établit que la levûre est un amas de globules susceptibles de se reproduire par bourgeonnement. C'était introduire dans la question une circonstance nouvelle : le développement d'êtres organisés pendant la fermentation (2). Mais tant qu'on ne faisait pour ainsi dire que noter les phénomènes secondaires qui accompagnaient la fermentation, cette observation, en jetant du doute sur la théorie de M. Liebig, compliquait le problème sans l'avancer en rien. Pour tirer parti du fait découvert par Cagniard de Latour, il fallait élever la méthode d'observation vague et incertaine dont on s'était servi à la hauteur d'une méthode vraiment scientifique : il fallait avant tout étudier la fermentation dans un cas parfaitement défini ; il fallait dans ce cas particulier si multiplier autant que possible la composition des milieux, et faire varier suivant

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. II, p. 257.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 2<sup>e</sup> série, t. LXVIII, p. 206.

des lois simples les principales circonstances de la fermentation, afin d'en saisir les corrélations. Tel est le genre de progrès qui conduisit M. Pasteur aux découvertes les plus inattendues.

C'est la fermentation alcoolique qui servit de base à ses études (1) ; mais il s'aperçut bientôt que le choix d'un mélange de sucre et d'un ferment solide était une condition très-désavantageuse : la structure organisée d'un tel ferment pouvait masquer la production des organismes ; sa constitution chimique très-complexe entourait de difficultés l'appréciation des réactions intérieures. Aussi cet habile chimiste avança-t-il beaucoup l'étude de la question quand il substitua à ces matières un mélange formé de sucre, d'eau de levûre et d'une trace de levûre fraîche, mélange à l'aide duquel il put obtenir des fermentations d'une régularité parfaite.

C'est en opérant dans ces conditions qu'il put établir les principes suivants sur lesquels repose la théorie nouvelle :

La matière albuminoïde de l'eau de levûre n'est pas décomposée pendant la fermentation ; elle ne dégage ni azote, ni ammoniaque. Ainsi, contrairement à ce que croyait M. Liebig, la décomposition de la matière organique azotée n'intervient pas dans le phénomène de dédoublement du sucre.

Si l'on réunit dans un vase du sucre, de l'eau de levûre, de l'air ordinaire, et si, par un des moyens indiqués dans l'étude de la génération spontanée, on empêche les organismes de s'y développer, le sucre aussi bien que la matière albuminoïde restent inaltérés. Ce fait renverse donc toutes les théories qui posaient en principe que la matière albuminoïde, seule ou aidée de l'oxygène de l'air, suffit à provoquer la destruction du sucre.

Si au sucre et à l'eau de levûre on ajoute une trace de levûre fraîche, le sucre fermente, et la levûre s'organise aux dépens d'une partie des éléments du sucre et de l'eau de levûre ; elle vit réellement, mais elle vit sans avoir besoin d'oxygène, contrairement à la plupart des végétaux inférieurs. Toutes les fois

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LVIII, p. 323.

que la fermentation est simplement alcoolique, la levûre de bière est pure d'organismes étrangers, et réciproquement. Il existe donc une corrélation constante entre cette fermentation et la présence d'un végétal déterminé vivant sans oxygène. Le rôle des matières albuminoïdes dans la fermentation consiste principalement à fournir aux globules de levûre la matière azotée qui entre dans leur constitution.

Le poids de sucre décomposé dans un temps donné n'est en relation ni avec la quantité de produits solubles de la levûre, ni avec le poids de levûre toute formée, qui existent dans la liqueur, mais avec le poids de la levûre qui s'est organisée pendant la fermentation : celle-ci est donc bien corrélatrice du *développement* du végétal, et non de la présence du végétal tout formé ou des produits chimiques auxquels il donne naissance.

Si la levûre de bière est mêlée à d'autres organismes, la fermentation alcoolique se compliquera d'autres fermentations ; mais l'alcool et la levûre de bière varieront toujours dans le même sens : cette expérience complexe vérifie les résultats précédents, et démontre que la fermentation alcoolique est corrélatrice du développement d'une seule espèce de végétal.

Enfin, toutes les circonstances de la fermentation de divers mélanges de sucre et de levûre, ou de sucre et de matières organiques solides, présentent un accord merveilleux avec les principes qui viennent d'être exposés.

La méthode suivie par M. Pasteur dans l'étude de la fermentation alcoolique peut être appliquée avec succès à tout phénomène du même genre :

Lorsqu'on entreprend l'étude d'une fermentation spéciale, on doit avant tout faire choix d'un milieu organique, dans lequel cette fermentation se produise naturellement avec régularité, et étudier au microscope les organismes qui l'accompagnent.

On cherche alors à la reproduire avec la même régularité dans un mélange artificiel formé de la substance fermentescible et d'un liquide albuminoïde, avec semences des organismes de la fermentation naturelle.

On essaye ensuite d'obtenir dans ce mélange artificiel le dé-

veloppement régulier de l'espèce d'organismes qui accompagne le plus souvent la fermentation qu'on étudie, et l'on s'assure que le phénomène chimique continue à se manifester avec les caractères qui lui sont propres.

Ces conditions une fois remplies, on interroge l'expérience pour savoir si la suppression des organismes par la chaleur, les antiseptiques, ou les divers moyens indiqués dans l'étude du germe, etc., supprime aussi la fermentation, et si l'apparition à l'état pur du ferment organisé dans les mêmes liquides développe aussitôt la fermentation sans mélange de produits étrangers : la corrélation du phénomène chimique et de quelque circonstance du phénomène vital est alors établie.

Mais on doit s'assurer en outre que ni les substances solubles sécrétées par les organismes vivants, ni la matière organisée de ces êtres, dont le développement est arrêté, ne peuvent seules exciter la fermentation ; on doit vérifier que le poids des produits de la fermentation est à peu près proportionnel au poids du ferment développé corrélativement. Si ces conditions sont remplies, il y a nécessairement corrélation entre le phénomène chimique et le développement progressif des êtres-ferments.

Il importe encore de remplacer le ferment organisé par d'autres espèces, pour établir que la fermentation spéciale dont il s'agit lui appartient en propre.

Viennent ensuite les expériences de vérification. Après avoir étudié une seule fermentation dans un milieu simple, il faut la suivre encore dans ce même milieu lorsqu'elle est compliquée par d'autres fermentations ; il faut la rechercher aussi jusque dans des milieux naturels plus complexes, et vérifier si les nouveaux résultats sont en harmonie avec les premiers.

Grâce à la sûreté de cette méthode, les principaux phénomènes chimiques qui accompagnent d'ordinaire le développement des êtres inférieurs dans les milieux organiques sont aujourd'hui connus dans ce qu'ils ont d'essentiel. Physiologiquement, ils paraissent pouvoir se diviser en trois classes :

1° Dans les *fermentations proprement dites*, un composé se dédouble en d'autres composés plus simples, *corrélativement*

au développement d'un être organisé qui vit sans oxygène, et dont l'espèce varie avec la nature de la fermentation. J'en citerai quelques exemples :

La fermentation alcoolique, la fermentation lactique, la fermentation visqueuse, successivement étudiées par M. Pasteur (1), sont caractérisées par le dédoublement du sucre en produits différents sous l'influence de *ferments végétaux* particuliers (2). Dans la fermentation butyrique, le sucre se transforme encore ; mais cette fois sous l'influence d'un *infusoire-ferment* : premier et frappant exemple d'animalcules vivant sans oxygène, dont la découverte est due à M. Pasteur. Dans la fermentation de l'urée, si complètement éclairée par les recherches de M. Van Tieghem, ce n'est plus le sucre qui se dédouble, mais un composé quaternaire, qu'un végétal, entrevu pour la première fois par M. Pasteur, réduit en carbonate d'ammoniaque (3).

2° On observe aussi dans les milieux organiques des *transformations de composés ternaires* qui sont encore *corrélatives de la présence d'êtres organisés*, mais qui exigent l'intervention de l'oxygène de l'air.

On sait, d'après les expériences de M. Pasteur, que le *Mycoderma aceti* fixe l'oxygène de l'air sur l'alcool pour en faire de l'acide acétique : cette oxydation est encore un phénomène propre à une seule espèce de végétal ; mais ici le végétal tout développé paraît agir par sa présence (4).

M. Van Tieghem a trouvé le secret de la transformation du tannin en acide gallique, dans l'action du mycélium du *Penicillium glaucum* ou de celui de l'*Aspergillus niger* en voie de formation : ici l'oxygène de l'air intervient encore nécessairement, non dans la transformation du tannin, mais dans le développement du végétal (5).

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LVIII, p. 323 ; t. LII, p. 404.

(2) *Comptes rendus*, t. LII, p. 344.

(3) Van Tieghem, *Recherches sur la fermentation de l'urée et de l'acide hippurique*, 1864.

(4) *Comptes rendus*, t. LIV, p. 160 et p. 265.

(5) Van Tieghem, *Recherches pour servir à l'histoire physiologique des Mucedinées*. — *Fermentation gallique*.

Enfin, lorsque les Mucédinées, les Mycodermes, etc., se développent activement, ils brûlent complètement les composés ternaires et les transforment à l'aide de l'oxygène de l'air en acide carbonique et en eau.

Ces divers degrés d'oxydation paraissent correspondre à des degrés de vitalité différents; car le même végétal peut oxyder plus ou moins le même composé, suivant qu'il se développe plus ou moins rapidement, ainsi qu'il résulte des observations de M. Pasteur et de M. Van Tieghem. Il y a plus : les ferments proprement dits se rattachent encore d'une façon lointaine aux organismes aériens, car dans certains cas ils paraissent pouvoir vivre en absorbant de l'oxygène, en particulier au moment de leur naissance. Il est donc probable que la fermentation proprement dite et la combustion complète par les êtres organisés ne sont que les termes extrêmes d'une même série de phénomènes.

3° En dehors de ces faits, se placent les réactions intimes des substances chimiques des milieux organiques, qui ne sont pas corrélatives de la présence des êtres vivants.

A cet ordre de phénomènes appartient l'interversion du sucre dans les matières qui fermentent ou qui se couvrent de moisissures, car il est bien vrai que ce sont des êtres organisés qui provoquent ce phénomène; mais il résulte des observations de Mitscherlich que ces êtres n'agissent pas par eux-mêmes, mais par une substance chimique qu'ils développent, et que M. Berthelot paraît avoir isolée (1).

La gangrène, les modifications de la viande qui se faisande (2), certaines altérations des œufs dont l'enveloppe est restée intacte (3), paraissent aussi se produire à l'abri des êtres vivants, par le seul jeu des réactions de la matière inorganisée.

Après avoir étudié les transformations naturelles de certains composés dans les milieux organiques, il serait très-intéressant de les remplacer par d'autres corps chimiquement analogues, afin de saisir les relations qui peuvent exister entre les propriétés

(1) *Comptes rendus*, t. 1., p. 980.

(2) *Ibid.*, t. VI, p. 1194.

(3) *Ibid.*, t. LVIII, p. 950.

chimiques et les propriétés physiologiques d'une même classe de combinaisons définies.

C'est ainsi que M. Berthelot a rapproché, par la propriété de fermenter alcooliquement, les sucres de canne, de raisin, de lait, le sucre interverti ; et la sorbine, la glycérine, la mannite, la dulcine, composés entre lesquels il avait observé de remarquables analogies chimiques ; mais les résultats du travail de M. Berthelot manquent peut-être de netteté dans les détails, parce que les milieux des fermentations étaient trop complexes, et que les fermentations étaient multiples (1).

C'est ainsi que M. Pasteur, en observant les transformations des substances actives sur la lumière polarisée par l'influence des organismes inférieurs, est parvenu à démontrer l'intervention de la dissymétrie moléculaire dans les phénomènes chimiques de la vie (2).

La détermination rigoureuse de l'équation chimique de chaque fermentation est le complément nécessaire de ces études. L'analyse chimique en atteindra sûrement tous les éléments, pourvu qu'elle s'attache au cas du développement d'une seule espèce organisée dans un liquide simple, analogue à ceux qui ont servi aux recherches fondamentales de M. Pasteur sur les fermentations. C'est, en effet, en opérant dans ces conditions qu'il rectifia et compléta l'équation chimique de la fermentation alcoolique, et que M. Van Tieghem fixa définitivement l'équation de la fermentation du tannin : jusque-là l'analyse, appliquée à des cas trop complexes, n'avait pu déterminer sûrement les équations de ces phénomènes.

J'ai exposé dans son ensemble la théorie des fermentations telle que M. Pasteur l'a fondée. Supprimer tour à tour chacune des circonstances d'une fermentation ; chercher si cette circonstance et cette fermentation apparaissent et disparaissent en même temps, et de là conclure que l'une et l'autre sont corrélatives, voilà tout le principe de cette théorie. Envisagée sous cet aspect, elle apparaît comme la représentation exacte des faits.

(1) *Comptes rendus*, t. XLIII, p. 238.

(2) *Ibid.*, t. XLVI, p. 615.

et elle semble inattaquable. Aussi, lorsqu'on l'a combattue, c'est qu'on n'en a pas exactement compris la portée : tantôt on a nié la spécificité des organismes-ferments en s'appuyant sur ce fait qu'une fermentation peut être accompagnée d'organismes différents; on a confondu alors une simple coexistence avec une relation nécessaire (1). Tantôt on a soutenu que les organismes n'excitent la fermentation qu'en vertu des composés chimiques qu'ils produisent. Ici on a fait une double erreur : d'une part, on a assimilé au phénomène de l'*interversión du sucre* les fermentations proprement dites, dont les caractères sont essentiellement différents; de l'autre, on a préjugé sans preuve du mode d'action des forces intimes de la matière. Or, la théorie de M. Pasteur ne va pas si loin : elle ne prétend pas atteindre jusqu'à ces forces élémentaires qui échappent à l'expérience; elle en recherche simplement les manifestations extérieures, qui sont les relations des diverses circonstances de chaque phénomène (2).

*Applications de la méthode mixte.* — Les études qui précèdent établissent des relations entre la vie des *organismes inférieurs* et les transformations de la matière des *animaux* ou des *végétaux supérieurs*; c'est-à-dire qu'elles nous révèlent le secret des phénomènes chimiques de l'ordre le plus élevé, de ceux même qui nous intéressent le plus directement.

Elles ont conduit M. Pasteur (3) à expliquer comment la matière des grands animaux ou des grands végétaux, soustraite à l'influence de la vie, est envahie par une foule d'organismes microscopiques qui lui font subir des phénomènes successifs de fermentation et d'oxydation dont les produits définitifs sont l'eau, l'acide carbonique, l'ammoniaque, etc. Ainsi, le rôle de ces petits êtres est de restituer à la masse des minéraux toute la matière organique que les animaux n'utilisent pas directement, condi-

(1) *Comptes rendus*, t. LXI, p. 374.

(2) *Ibid.*, t. I, p. 980.

(3) *Ibid.*, t. LXI, p. 1194.

tion nécessaire pour que cette matière puisse revenir aux végétaux et rentrer dans le cercle de la vie.

Parmi les transformations naturelles des substances organiques, il en est que l'industrie recherche tout spécialement pour en utiliser les produits. La science peut donc venir en aide à la pratique en lui apprenant à favoriser le développement des organismes liés à ces transformations, ou à éloigner des milieux en fermentation les organismes étrangers nécessairement nuisibles.

C'est ainsi que M. Pasteur substitua aux anciens procédés de fabrication du vinaigre un procédé rationnel, fondé sur les relations de l'acétification de l'alcool et de la présence du *Mycoderma aceti* (1).

Un peu plus tard il appliqua les résultats de ses études sur les petits organismes à un cas beaucoup plus complexe : il chercha le secret de ces modifications délicates que le vin subit avec le temps, dans les circonstances diverses de la pratique. Il fut assez heureux pour en découvrir les deux lois fondamentales. On sait que le vin peut éprouver avec le temps deux sortes de transformations : les unes constituent les *maladies*, les autres ce qu'on appelle le *vieillissement* du vin. Après de nombreuses expériences, M. Pasteur reconnut que chaque maladie du vin est corrélatrice du développement d'êtres organisés d'espèce déterminée; qu'au contraire la propriété de vieillir est indépendante de la vie des organismes, qu'elle est due aux réactions des principes chimiques du liquide par l'action lente et nécessaire de l'oxygène de l'air (2).

Ce sont ces résultats qui lui ont suggéré l'idée d'*appliquer la chaleur à la conservation du vin*. C'est à lui que revient le mérite d'avoir démontré expérimentalement :

1° Que le chauffage, en tuant les germes des organismes du vin, le préserve de toutes les maladies;

2° Qu'il n'empêche pas le vin de vieillir, par cela même

(1) *Comptes rendus*, t. LV, p. 23.

(2) *Études sur le vin ; ses maladies, causes qui les provoquent ; procédés nouveaux pour le conserver, le vieillir, etc.*, par M. Pasteur, 1866.

que la propriété de vieillir est indépendante des organismes ;

3° Qu'il ne lui fait acquérir aucune propriété mauvaise ;

4° Qu'une température de 60 degrés suffit pour détruire les germes contenus dans le vin ;

5° Que le vin chauffé se conserve, dans les circonstances habituelles de la pratique.

Toutes ces conditions sont nécessaires pour assurer la valeur pratique du procédé de conservation du vin par le chauffage. Or, pour les déterminer sûrement, il fallait prendre pour guide l'ensemble des travaux théoriques de M. Pasteur sur le développement des petits organismes. Aussi avait-on maintes fois chauffé du vin sans reconnaître les véritables effets de la chaleur sur ce liquide ; et Appert lui-même, bien que guidé par le fait de la conservation des substances alimentaires par la chaleur, avait avancé que ce traitement aiderait à la conservation du vin, sans cependant réussir à le démontrer par l'expérience.

Les recherches de M. Pasteur sur les maladies épidémiques du ver à soie constituent la plus haute application qui ait été faite, dans le sens de la méthode pratique, des méthodes expérimentales aux phénomènes de la physiologie.

On avait bien remarqué, avant M. Pasteur, que certains *corpuscules* accompagnaient fréquemment, dans les vers à soie, la maladie de la *pébrine*. Mais ce fait pouvait n'être qu'une simple coïncidence d'une importance tout à fait secondaire. Lorsqu'en contagionnant des vers sains au moyen de corpuscules, il réussit à leur communiquer la pébrine avec ses caractères habituels, il établit, par ce seul résultat, qu'il y a corrélation entre l'altération des organes par la pébrine et le développement des corpuscules. Dès lors l'étude de cette maladie se ramenait à la recherche des conditions du développement de ces petits êtres ; au point de vue pratique, il suffisait même d'examiner les conditions les plus extérieures, celles dont l'étude appartient en propre à la méthode mixte.

Parmi ces conditions extérieures, M. Pasteur étudia principa-

lement l'influence des germes des corpuscules sur la propagation de ces êtres. Bientôt il reconnut que ces germes peuvent être transmis par hérédité, et que ce mode de transmission a, au point de vue pratique, sur le développement des corpuscules, une influence prédominante. Pour arrêter la maladie, il fallait donc supprimer l'infection par hérédité, en éliminant comme reproducteurs tous les vers capables de transmettre les germes corpusculaires; et, pour reconnaître ces vers, il fallait rechercher des caractères à la fois certains et pratiques. Tels sont les principes sur lesquels il fonda un procédé rationnel de grainage qu'il appliqua également avec succès à une autre maladie des vers à soie, la *flacherie* (1), maladie corrélatrice du développement d'autres parasites.

Ces travaux sur les vers à soie nous révèlent un procédé général pour l'étude rationnelle des maladies contagieuses : il consiste dans l'application de la méthode suivie dans l'étude d'une fermentation. Il faut avant tout rechercher avant tout si un être microscopique d'une espèce spéciale accompagne ordinairement la maladie. On essaiera alors de le faire développer dans des sujets sains, en les contagionnant avec les germes du parasite, et, si la maladie se présente avec tous ses caractères, on pourra en conclure qu'il y a corrélation entre le développement de cet organisme et les transformations chimiques des substances des organes qui constituent la maladie. Il restera alors à étudier l'influence des circonstances extérieures sur le développement du parasite, telles que les divers modes de transmission de ses germes, les conditions de température, d'aération, de nutrition des êtres aux dépens desquels il se propage, etc. De cette étude résulteront les moyens pratiques à employer pour combattre l'épidémie.

*Résultats de la méthode mixte.* — La méthode mixte, appliquée aux êtres inférieurs, a résolu un ensemble de questions parfaitement déterminé.

D'abord elle nous a fait connaître les principales conditions

(1) *Comptes rendus*, années 1865, 1866, 1867, 1868, 1869.

du développement de ces organismes : un germe, de l'oxygène, de l'eau, *une matière complexe d'origine organique*, un certain degré d'acidité ou d'alcalinité, une certaine température.

Ensuite elle a abordé l'étude des transformations spontanées de substances organiques définies qu'on ajoute à une dissolution de matières albuminoïdes ; elle a reconnu que ces transformations consistent soit en des dédoublements, soit en des phénomènes d'oxydation qui peuvent être représentés par des équations chimiques dont ne font pas partie les principes des organismes vivants qui se développent parallèlement.

Enfin elle a déterminé les relations qui unissent ces transformations à la vie des organismes inférieurs dans les mêmes milieux.

Cette méthode, appliquée avec un succès inespéré à l'étude des transformations qui s'accomplissent sous l'influence des organismes microscopiques, soit dans les êtres vivants, soit dans les matières organiques que l'industrie met en œuvre, a montré qu'elle peut porter la lumière dans les plus utiles questions de la pratique, comme dans les plus hauts problèmes de la physiologie.

La méthode mixte est donc incontestablement supérieure à la méthode analytique. En outre, elle a pénétré beaucoup plus avant dans l'étude des phénomènes de la vie chez les organismes inférieurs que chez les grands végétaux. Aussi est-il à remarquer que l'application rationnelle de cette méthode à la physiologie des petits organismes est de date très-récente, puisqu'elle appartient pour ainsi dire tout entière aux travaux de M. Pasteur. Il n'est guère jusqu'ici qu'un côté, fort essentiel il est vrai, des phénomènes chimiques de la vie des êtres inférieurs que cette méthode ait laissé dans l'ombre : je veux parler de l'influence des *divers éléments de la matière organique azotée* sur le développement de ces êtres.

### III. — Méthode synthétique.

*Possibilité du développement des organismes inférieurs dans un milieu artificiel formé d'éléments chimiques définis.* — La méthode

synthétique repose sur la possibilité de trouver des milieux propres au développement des êtres organisés qui soient exclusivement formés de composés chimiques définis. A priori, on ne saurait conclure des expériences relatives aux grands végétaux, que les organismes inférieurs peuvent vivre dans des milieux artificiels, car il est bien certain que ces petits êtres ne réduisent pas l'acide carbonique à la lumière, puisent leurs principaux éléments dans les substances organiques, et paraissent tout d'abord s'écarter complètement de la manière de vivre des grands végétaux. C'est donc à l'expérience à prononcer.

Dès 1834, M. Morren vit naître dans l'eau de source des animalcules verts dont il fit une étude suivie (1). En 1858, M. Béchamp obtint des moisissures dans l'eau sucrée mêlée de divers sels (2). M. Bineau alla même plus loin : il reconnut, en 1853, que des Algues qui croissaient dans l'eau de pluie faisaient disparaître l'ammoniaque qui y était contenue naturellement, ou celle qu'on y ajoutait en petite quantité. Mais les quantités toujours très-faibles de ces productions pouvaient être attribuées à la présence de traces de matières complexes d'origine organique; la preuve en est que les auteurs de ces expériences ne portèrent nullement leur attention sur la formation possible des organismes inférieurs aux dépens des composés chimiques définis des liquides dont ils se servaient.

La question restait donc entière, lorsque M. Pasteur entreprit ses expériences sur la fermentation alcoolique. La formation des principes ternaires de la levûre aux dépens du sucre, la disparition de l'ammoniaque des liqueurs en fermentation, fixèrent son attention; il se demanda si le sucre, l'ammoniaque et les éléments minéraux de la levûre ne suffiraient pas à créer le *végétal-ferment* de toutes pièces, et il composa le milieu artificiel suivant :

Eau pure.....	100
Sucre candi.....	10
Tartrate d'ammoniaque.....	0,1
Cendres de 1 gramme de levûre.	
Traces de levûre fraîche.	

(1) *Annales des sciences naturelles, Zoologie*, 2<sup>e</sup> série, t. III, p. 5.

(2) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LIV, p. 28.

Il se forma peu à peu de la levûre, en poids très-supérieur aux traces de matières organiques qui pouvaient exister dans le milieu, et identique par sa composition avec la levûre naturelle. En même temps tous les phénomènes de la fermentation ordinaire se produisirent. Mais le poids de levûre formée et l'intensité du phénomène chimique furent incomparablement plus faibles que dans les liquides albuminoïdes. Le problème fondamental de la méthode synthétique était donc résolu.

Voici d'ailleurs en quels termes M. Pasteur résume cette mémorable expérience :

« Les résultats suivants montreront toute la puissance d'organisation de la levûre, et mettront fin, ce me semble, aux discussions sur sa nature. Dans une solution de sucre candi pur, je place, d'une part un sel d'ammoniaque, par exemple, du tartrate d'ammoniaque, d'autre part la matière minérale qui entre dans la composition de la levûre de bière, puis une quantité pour ainsi dire impondérable de globules de levûre frais. Chose remarquable, les globules semés dans ces conditions se développent, se multiplient, et le sucre fermente, tandis que la matière minérale se dissout peu à peu et que l'ammoniaque disparaît. En d'autres termes, l'ammoniaque se transforme dans la matière albuminoïde complexe, qui entre dans la constitution de la levûre, en même temps que les phosphates donnent aux globules nouveaux leurs principes minéraux. Quant au carbone, il est évidemment fourni par le sucre.

» Il ne faudrait pas croire néanmoins que la fermentation devienne jamais aussi active que si, au lieu d'ammoniaque pour aliment azoté des globules semés, on se servait d'une matière albuminoïde appropriée, comme celle du raisin, du jus de betterave, ou la partie soluble de la levûre de bière ordinaire. Sème-t-on dans de l'eau sucrée, mêlée d'un peu de ces matières albuminoïdes, des globules de levûre frais, les phénomènes généraux seront en tous points les mêmes que ceux que je viens de décrire, mais la fermentation sera très-sensiblement plus active. Par exemple, au lieu de se déclarer

» après 36 à 48 heures, les premières petites bulles d'acide carbonique apparaissent déjà au bout de 12 à 24 heures. En outre la quantité de levûre formée et déposée dans le même temps est bien supérieure ; mais, je le répète, tout est pareil, avec une énergie plus grande, et les produits fournis sont rigoureusement les mêmes. »

Et plus loin, après avoir décrit toutes les particularités de l'expérience, M. Pasteur en tire cette conclusion :

« Tous ces résultats, de la plus rigoureuse exactitude, bien que la plupart aient été obtenus en agissant sur des poids de matière très-faibles, établissent la production de la levûre alcoolique et de la fermentation particulière qui lui correspond dans un milieu formé uniquement de sucre, d'un sel d'ammoniaque et d'éléments minéraux (1). »

M. Pasteur appliqua ensuite des milieux artificiels du même genre, rendus alcalins ou acides, au développement des Bactéries, des Vibrions, des Mucédinées, etc. M. Van Tieghem, s'en servit également pour étudier la fermentation ammoniacale et la fermentation gallique. Les résultats furent constamment d'accord avec ceux qu'avait offerts la fermentation alcoolique (2).

M. Pasteur supprima tour à tour chaque élément du milieu artificiel, sucre, élément azoté, matières minérales, et il n'obtint plus que des traces de matière organisée. Il observa même qu'une diminution des alcalis ralentissait la végétation, et c'est en vain qu'il chercha à remplacer les phosphates par les arséniate.

L'ammoniaque peut être remplacée par d'autres composés azotés. M. Pasteur lui a substitué, avec succès, le nitre et l'éthylamine dans la végétation des Mucédinées. M. Van Tieghem a réussi à développer la Torulacée de la fermentation

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LVIII, p. 382, 384 et 393.

(2) *Ibid.*, 3<sup>e</sup> série, t. LXIV, p. 107. — Van Tieghem, *Recherches sur la fermentation de l'urée et de l'acide hippurique*, 1864 (*Annales des sciences naturelles*, 5<sup>e</sup> série, t. VIII).

ammoniacale de l'urine, avec de l'urée, de l'acide hippurique, comme éléments azotés, tandis que l'éthylurée a été inactive. Le sucre a pu être remplacé par le tannin dans les recherches de M. Van Tieghem sur la végétation du *mycelium* de certaines Mucédinées; et par la glycérine, l'acide tartrique, l'acide succinique, l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide oxalique, dans les expériences de M. Jodin sur le développement de divers organismes.

Les transformations chimiques qui s'opèrent dans ces milieux artificiels sont entièrement semblables à celles que nous avons observées dans les milieux naturels.

Parmi ces transformations, M. Jodin a étudié principalement les phénomènes d'oxydation des composés ternaires par l'oxygène de l'air, et les phénomènes d'inversion du sucre qui accompagnent le développement des organismes; mais les résultats fort intéressants auxquels il est parvenu auraient peut-être offert des caractères plus nets et plus constants, si, au lieu de laisser croître à leur gré divers organismes dans les milieux artificiels dont il se servait, il en avait cultivé d'espèces déterminées (1).

En même temps qu'une partie des composés du milieu artificiel se transforme en certains produits extérieurs à l'organisme des êtres vivants, une autre portion s'organise et fournit leurs principes immédiats : le sucre forme la cellulose, les matières grasses; le sucre et l'ammoniaque produisent l'albumine; les matières minérales donnent les éléments des cendres que l'on trouve par incinération dans tous ces êtres. La question de l'assimilation de l'azote de l'air par les petits organismes a été traitée par M. Jodin à l'aide de la *méthode directe*, qui l'a conduit au résultat suivant : Certaines espèces assimileraient l'azote de l'air en quantités notables; d'autres espèces qui vivent de la substance des premières convertiraient cet azote assimilé en ammoniaque (2).

(1) *Comptes rendus*, t. LIV, p. 913; t. LIII, p. 125; t. LV, p. 612; t. LVII, p. 434.

(2) M. Jodin a eu recours à la *méthode directe*, qui consiste à doser directement l'azote dans l'air à l'état gazeux. J'ai cherché à donner à cette méthode la précision qui lui manque, en évitant tout transvasement de gaz et de liquides, en opérant dans des vases fermés à la lampe, et en mesurant directement, par une différence de pres-

*Conséquences générales.* — Ces résultats ajoutent aux théories de M. Pasteur sur la génération et sur les fermentations des arguments d'une grande force : Les hétérogénistes, on se le rappelle, ont été forcés d'admettre que la génération spontanée ne se produit que dans des matières organiques ayant eu vie, qui ne sont pas trop altérées, et qui ont pour ainsi dire conservé un reste de force vitale. Puisque dans les milieux artificiels, les organismes se développent, à l'intensité près, comme dans les liquides naturels, cette hypothèse est donc contraire aux faits ; et voilà l'hétérogénie privée d'une de ses bases les plus essentielles.

S'il pouvait encore rester quelque incertitude sur les théories de Berzelius et de M. Liebig sur la fermentation, elle disparaîtrait radicalement en présence de ce fait : que la fermentation peut se produire dans des liqueurs où l'albumine n'existe point, où elle se forme, loin de se détruire. Le rôle qu'attribuaient ces théories aux matières organiques azotées est donc imaginaire.

Il est intéressant de comparer le milieu artificiel dans lequel se développent les êtres inférieurs au milieu artificiel propre aux grands végétaux : les uns empruntent leur carbone, leur hydrogène, leur oxygène *aux composés ternaires*, les autres à l'*acide carbonique* et à l'*eau* ; il y a donc opposition complète. Mais d'un autre côté on voit les nitrates ou les sels ammoniacaux et les sels minéraux (phosphate de potasse principalement) concourir au développement des uns et des autres : ici analogie parfaite. En général, au point de vue de l'assimilation du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène, les êtres microscopiques paraissent se rapprocher des animaux ; au point de vue de l'assimilation de l'azote, du phosphore, etc., ils ressemblent plutôt aux végétaux.

*Résultats principaux.* — En résumé, le milieu artificiel propre

sions, l'azote absorbé ou exhalé par les organismes, cultu en écartant toute espèce de correction. Je n'ai point trouvé que l'azote fût absorbé par les Mucédinées, résultat conforme à celui qu'a obtenu M. Boussingault par une autre méthode. (*Comptes rendus*, 1863, t. LVII, et 1862, t. LV.)

au développement des organismes inférieurs est formé nécessairement :

- 1° D'un composé ternaire dont le sucre est le type ;
- 2° D'un composé azoté (ordinairement l'ammoniaque) ;
- 3° De sels minéraux phosphatés.

La présence simultanée de ces trois sortes de composés est nécessaire à la vie de ces organismes, car la suppression de l'un d'entre eux diminue singulièrement la production de la matière organisée.

Ces substances participent à la formation des petits organismes, d'une part en fournissant leurs principes immédiats, de l'autre en se transformant en d'autres produits extérieurs à ces organismes par voie de dédoublement ou d'oxydation.

Le développement des organismes dans ces milieux est incomparablement plus faible que dans les liquides naturels, sans qu'on puisse actuellement préciser les causes de cette différence.

Tel était l'état des connaissances acquises par la synthèse sur le développement des petits organismes, lorsque j'entrepris les recherches exposées dans la deuxième partie de ce Mémoire, dont les premiers résultats ont été publiés en 1863 (1).

### CHAPITRE III.

#### MÉTHODE GÉNÉRALE POUR ÉTUDIER LA CHIMIE DES VÉGÉTAUX.

Tous les problèmes que nous avons examinés successivement se résument dans ces deux questions générales :

Quels sont les éléments physiques et chimiques du milieu dans lequel vit un végétal, et quelle est l'influence de chacun d'eux sur le développement du végétal ?

Quelles sont les substances dans lesquelles se transforment successivement les éléments chimiques de ce milieu, et quelles sont les relations de ces transformations avec le végétal ?

La méthode analytique, la méthode mixte, la méthode syn-

(1) *Comptes rendus*, t. LVII, p. 228.

thétique, qu'elles s'appliquent à l'étude des grands ou des petits végétaux, ont pour objet les problèmes qui se rattachent à ces deux propositions, mais elles les résolvent avec des degrés de perfection très-divers.

A l'appui de cette assertion, citons quelques exemples. La méthode analytique, en découvrant la présence de l'azote dans tous les végétaux, en comparant la quantité d'azote des récoltes aux proportions de cet élément que le sol peut leur céder, enfin en constatant l'existence dans l'atmosphère de l'ammoniaque et de l'acide nitrique, suggéra l'idée que peut-être l'azote des plantes a ces deux composés pour origine; mais ce n'était encore qu'une idée préconçue. La méthode mixte alla plus loin : elle démontra incontestablement que l'acide nitrique ou l'ammoniaque, ajoutés aux terres arables à l'état de sels, favorisent le développement des végétaux, sans nous renseigner d'ailleurs sur le sens de ce fait remarquable. Quel est le rôle de ces composés dans la vie des plantes? S'ils fournissent aux végétaux l'azote qui entre dans leur constitution, agissent-ils directement, ou bien après avoir été transformés par les matières organiques du sol? Enfin quelle est la mesure de l'efficacité de ces composés, et par suite la mesure de l'importance de l'azote pour l'organisation de la matière? C'est la méthode synthétique qui se chargea de répondre à toutes ces questions. D'autre part on se rappelle qu'il n'est sorti de la méthode mixte aucune observation précise sur les transformations des composés carbonés et hydrogénés par les grands végétaux : au contraire, cette méthode appliquée aux petits organismes nous a fait connaître les lois fondamentales des transformations des composés ternaires en leur présence.

On peut se convaincre, par l'examen comparatif de toutes les questions précédemment exposées, que ces résultats, loin d'être isolés, comportent la généralisation la plus étendue :

En ce qui concerne les grands végétaux, la méthode analytique nous a fourni des faits épars entre lesquels elle nous a fait entrevoir à peine quelques rapports lointains. La méthode mixte nous a déjà révélé quelques relations certaines entre le développement d'un végétal et les circonstances les plus extérieures du

milieu où il vit. La méthode synthétique, saisissant dans leur ensemble les rapports du végétal et de chacun des éléments qui l'entourent, a fondé sur eux la théorie rationnelle de la chimie des végétaux supérieurs. D'autre part, la méthode mixte, appliquée à des problèmes fondamentaux de la chimie des petits organismes, à l'étude de l'intervention du germe dans la vie de ces êtres, et à celle des phénomènes chimiques corrélatifs de leur développement, s'est subitement révélée à nous comme une méthode douée d'une puissance, d'une fécondité que nous ne lui connaissions pas, tant qu'elle s'est bornée à l'étude des grands végétaux.

Généralement, comme moyen d'investigation, la méthode mixte est moins bornée que la méthode analytique, et la méthode synthétique offre seule les conditions d'une méthode de recherches vraiment complète; chacune de ces méthodes présente incomparablement plus de ressources pour l'étude des petits organismes que pour celle des grands végétaux. Cette proposition va ressortir avec évidence de la comparaison des caractères de ces méthodes appliquées aux divers ordres d'organismes.

La méthode synthétique est supérieure à la méthode analytique par trois caractères principaux :

1<sup>o</sup> Elle nous permet, et c'est là sa propriété essentielle, de faire varier arbitrairement, une à une, les circonstances au milieu desquelles un végétal se produit, de déterminer les variations qui en résultent pour le développement du végétal, et, par suite, de saisir directement les relations des circonstances extérieures avec le phénomène de la végétation. Au contraire, la méthode analytique ne nous indique jamais que la coexistence de certaines propriétés des plantes et de certains éléments du milieu extérieur, et cette coexistence, qui peut être purement fortuite, ne doit pas être confondue avec une relation nécessaire; d'ailleurs les variations naturelles que cette méthode permet d'observer dans les circonstances du phénomène de la végétation sont ordinairement trop complexes, trop multiples, pour qu'on en puisse déduire quelque relation simple.

2° Aux milieux naturels, illimités et complexes, dans lesquels vivent les plantes, la méthode synthétique substitue des milieux parfaitement limités, moins complexes et par le nombre et par la nature des substances qui les composent : elle rend donc plus simple et plus exacte l'étude des phénomènes chimiques qui accompagnent le développement d'un végétal.

3° Lorsqu'on étudie la végétation dans les milieux naturels, on est astreint à rechercher par analyse tous les éléments de ces milieux ; à l'aide de la méthode synthétique, on connaît exactement d'avance, sans avoir besoin de recourir à l'analyse, tous les éléments extérieurs qui peuvent concourir à la formation des plantes, et cette notion sert elle-même de guide pour la recherche des produits qui résultent de la végétation ; elle en simplifie considérablement l'étude.

On voit sans peine que la méthode mixte, qui participe à la fois des propriétés des deux méthodes précédentes, constitue un progrès sur la méthode analytique, bien qu'elle soit très-inférieure encore à la méthode synthétique.

Comparons à présent l'étude des grands végétaux et celle des organismes inférieurs par la méthode synthétique :

1° La durée des expériences est pour les grands végétaux beaucoup plus considérable que pour les végétaux inférieurs : c'est là pour l'étude des premiers une difficulté et une source d'erreurs.

2° Les appareils dans lesquels se développent les organismes inférieurs sont moins compliqués, ont des dimensions moindres que les appareils nécessaires à la végétation des grandes plantes.

3° Le sable qui sert de sol pour les grands végétaux apporte toujours avec lui des impuretés ; le mélange de ce sable et des sels essentiels à la végétation n'est jamais parfaitement homogène et l'analyse exacte en est très-difficile. Ces causes d'erreurs acquièrent une importance réelle par suite de l'influence considérable que peuvent exercer de petites quantités de matières sur la végétation : dans l'étude des petits organismes, elles se trouvent supprimées par la substitution de l'eau au sable.

4° Le germe d'un grand végétal a généralement un poids

très-appreciable ; il introduit donc dans les essais une quantité non négligeable de matières complexes, qu'on ne peut jamais supprimer, et dont l'appréciation analytique est toujours peu exacte. Au contraire, le poids d'un germe des organismes inférieurs est tellement faible, qu'il échappe aux pesées les plus délicates.

5° Les végétaux inférieurs, réduits à de simples cellules, doivent présenter des phénomènes plus simples, plus constants, par suite plus faciles à saisir, que ceux des grands végétaux dont l'organisation est plus complexe ; en même temps l'analyse chimique devient plus facile, plus exacte, pour les êtres cellulaires, de constitution à peu près homogène, que pour les grands végétaux, dont la composition est variable d'un organe à un autre.

Ces considérations paraissent conduire à plusieurs remarques générales :

Dans l'examen comparatif des travaux qui se rattachent à une question de chimie végétale, on éprouve souvent un grand embarras, pour décider de la place que chaque découverte doit occuper dans l'ordre scientifique, pour apprécier le progrès qu'elle a accompli, pour déterminer le point exact où elle s'arrête, pour juger du degré de confiance qu'elle doit inspirer. Je n'en veux pour preuve que le désaccord qui règne parmi les savants sur bien des questions de physiologie végétale, telles que celles-ci : A qui revient le mérite d'avoir démontré que l'ammoniaque peut fournir aux plantes l'azote essentiel à leur constitution ? Qui a reconnu que les végétaux peuvent s'assimiler le phosphore des phosphates, etc. ? J'attribue ces incertitudes, d'une part à ce que chaque question de ce genre peut être traitée par des méthodes très-diverses, de l'autre à ce que l'on apprécie d'ordinaire la valeur intrinsèque des recherches expérimentales, sans les mettre en rapport avec les méthodes qui leur ont servi de base. Il en serait autrement si, lorsqu'on analyse un travail sur la chimie des végétaux, on se préoccupait avant tout de la méthode à laquelle il appartient, de la nature des végétaux qu'il a pour objet. De ces conditions résulterait immé-

diatement le rang que l'on doit assigner à ce travail, le genre de progrès qu'il peut réaliser, le degré d'importance qu'il comporte ; on pourrait ensuite étudier fructueusement les détails d'expérimentation : un tel examen conduirait en somme à une appréciation d'une sûreté incontestable.

Les principes qui m'ont guidé dans l'exposé des progrès de la *chimie appliquée aux végétaux* paraissent donc offrir une base solide aux études critiques sur les découvertes acquises à cette science ; en même temps ils vont nous indiquer la voie rationnelle à suivre pour l'enrichir de découvertes nouvelles.

Si l'on se proposait de résoudre complètement et sûrement le problème chimique du développement d'un végétal, il faudrait recourir à la *méthode synthétique*, qui atteint le plus haut degré de perfection, et l'appliquer à l'étude d'un *végétal microscopique* pour laquelle elle offre les ressources les plus étendues.

Le problème de la vie, dans ce cas particulier, ne présenterait par lui-même qu'un intérêt restreint ; mais il importerait de faire de ce problème le point de départ d'un ensemble de travaux scientifiquement ordonnés, ayant pour objet la chimie générale des végétaux. Il est permis de croire en effet qu'en s'appuyant sur la connaissance exacte des phénomènes de la végétation dans le cas le plus simple, on pourrait s'élever sûrement à l'étude de cas de plus en plus complexes. Ainsi passer de la connaissance des petits végétaux à celle des végétaux supérieurs, de la méthode synthétique à la méthode mixte, et de celle-ci à la méthode analytique, telle serait la marche naturelle de la chimie rationnelle des végétaux.

Du reste, il y a longtemps que la *chimie proprement dite* s'est engagée dans cette voie : la connaissance des combinaisons artificielles fort simples de la chimie minérale a préparé la voie pour l'étude des composés plus complexes de la chimie organique, et des substances minérales ou organiques de la nature.

A cette méthode rationnelle, la science des phénomènes chimiques de la matière inorganisée doit toutes ses découvertes. Penserait-on pouvoir se passer d'un guide aussi sûr dans

l'étude plus complexe des phénomènes chimiques des êtres vivants ?

Ces deux sortes de phénomènes, en ce qu'ils ont d'essentiel, présentent la plus complète analogie. De part et d'autre que voyons-nous ? Des composés chimiques placés dans des circonstances convenables se transformer en d'autres composés. Le phénomène du développement d'une plante, comme le phénomène de la formation des corps inorganisés, se résume au point de vue chimique dans la connaissance exacte de l'équation qui lie les substances qui réagissent aux produits de leur transformation. Sans doute les réactions des êtres vivants sont plus compliquées, ordinairement plus lentes que les réactions de la matière inorganisée ; sans doute encore la production d'un végétal exige une circonstance spéciale, la présence d'un *germe*, dont la mystérieuse influence force la matière à s'organiser. Mais au point de vue chimique, les phénomènes que nous comparons sont absolument de même ordre, et l'on doit en conclure que la méthode qui convient aux uns s'appliquerait aux autres avec un égal succès.

Cependant, dans les recherches chimiques sur la végétation, on a suivi longtemps en sens inverse la voie que je viens d'indiquer : on a étudié les phénomènes de la végétation dans les milieux naturels, bien avant que le développement des plantes dans les milieux artificiels fixât sérieusement l'attention des savants ; et les phénomènes de la vie des grands végétaux avaient été l'objet de bien des travaux, lorsque les chimistes s'aperçurent enfin que les êtres inférieurs n'étaient pas indignes de leur attention. Si la véritable route scientifique a été découverte si tard, bien qu'elle fût indiquée pour ainsi dire par l'heureuse initiative de la *chimie générale*, il faut attribuer ce fait à ce que la nature nous offre partout les phénomènes les plus complexes, et nous dérobe la vue des phénomènes les plus simples : les premiers attirent donc toute notre attention, les seconds passent inaperçus.

Aussi la découverte de la *méthode rationnelle* pour l'étude de la chimie des êtres vivants comme de la matière inerte, était

subordonnée à la découverte des *lois du phénomène chimique* dans les cas les plus simples.

Le jour où Lavoisier réussit à expliquer le fait de la combustion d'un corps simple dans l'oxygène, c'est-à-dire à surprendre les lois essentielles de la combinaison dans le cas le plus simple, un esprit profond eût pu prédire que la *Chimie des êtres inorganisés* était créée.

De même M. Pasteur a donné à la *Chimie des êtres organisés* son véritable point d'appui lorsque, par une inspiration hardie, il devina que le nœud des questions physiologiques se trouvait dans les phénomènes de la vie considérée dans des milieux de composition simple, chez des organismes tellement simples, qu'à peine on leur concédait le droit de vivre.

Cette pensée a présidé à toutes les recherches de M. Pasteur sur le développement des petits organismes.

Moi-même, pendant deux années que j'ai passées auprès de mon illustre Maître, j'ai cherché à m'inspirer de ses vues originales sur les phénomènes de la vie, comme aussi de sa rigoureuse méthode d'expérimentation. C'est dans cet ordre d'idées que j'ai entrepris les *Recherches sur la végétation des Mucédinées*, qui font l'objet de la seconde partie de ce mémoire, et pour lesquelles M. Pasteur a bien voulu me donner des conseils et des encouragements. Je m'estimerais heureux si, par ce travail, j'avais réussi à apporter quelques faits à l'appui des prévisions que M. Pasteur exprimait en 1862 dans un langage empreint d'une conviction profonde, à propos de ses découvertes sur la génération des êtres inférieurs :

« Ces faits nous découvrent une méthode à l'aide de laquelle » la physiologie végétale pourra aborder sans peine les questions les plus délicates de la vie de ces petites plantes (Mucédinées), de manière à préparer sûrement la voie pour l'étude des mêmes problèmes chez les végétaux supérieurs.

» Lors même qu'on craindrait de ne pouvoir appliquer aux » grands végétaux les résultats fournis par ces organismes d'apparence si infime, il n'y aurait pas moins un grand intérêt » à résoudre les difficultés que soulève l'étude de la vie des

» plantes en commençant par celles où la moindre compli-  
» cation d'organisation rend les conclusions plus faciles et plus  
» sûres : la plante est réduite ici en quelque sorte à l'état cellu-  
» laire, et les progrès de la science montrent de plus en plus  
» que l'étude des actes accomplis sous l'influence de la vie  
» végétale ou animale, dans leurs manifestations les plus com-  
» pliquées, se ramène en dernière analyse à la découverte des  
» phénomènes propres à la cellule (1). »

(1) *Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série, t. LXIV, p. 109.

---

## DEUXIÈME PARTIE

---

### RECHERCHES

SUR LE

# DÉVELOPPEMENT D'UNE MUCÉDINÉE

DANS UN MILIEU ARTIFICIEL.

---

L'étude chimique du développement des végétaux les plus simples, dans des milieux artificiels d'une grande simplicité, doit naturellement servir de base à la chimie générale des végétaux : tel est le principe que j'ai essayé de faire ressortir dans la première partie de ce mémoire (page 102). Cette idée a été le mobile du travail que je présente ici sur la végétation d'une Mucédinée spéciale, l'*Aspergillus niger*, dans un milieu artificiel formé de composés définis.

Réaliser les conditions les plus favorables à la production de ce végétal ; chercher quels sont les éléments physiques ou chimiques qui influent sur son développement ; mesurer numériquement les effets de chacun d'eux ; découvrir par l'analyse les transformations des substances qui prennent part à la nutrition du végétal ; en un mot, déterminer complètement l'équation chimique qui résume le phénomène vital ; enfin des résultats obtenus dégager les conséquences générales qu'ils comportent : tel était le problème à résoudre.

On comprendra sans peine que j'aie laissé cette tâche

inachevée : après avoir réuni les conditions les plus essentielles à la végétation de l'*Aspergillus*, j'ai cherché principalement à déterminer l'influence de chacune d'elles sur le développement de cette Mucédinée.

I

EXPOSÉ DE LA MÉTHODE SUIVIE DANS CE TRAVAIL.

*Principes généraux de la méthode.* — La propriété des végétaux de se développer dans des milieux artificiels exclusivement formés de composés chimiques définis, est assurément un des côtés les plus intéressants de leur histoire. Quand on a réussi à composer un pareil milieu, propre à la nutrition d'un végétal déterminé, voici la marche à suivre pour étudier l'influence de diverses circonstances physiques ou chimiques sur le développement de ce végétal : On disposera un vase rempli d'un mélange artificiel dans les conditions les plus favorables pour la végétation ; on y sèmera des germes du végétal, qu'on laissera croître pendant le temps nécessaire : cet essai, qu'on reproduit identiquement dans chaque série d'expériences, est l'*essai type*, celui auquel on compare tous les autres. Parallèlement à ce premier essai, on en disposera un autre qui ne diffère du premier que par la seule circonstance qu'on se propose d'étudier. On pèsera séparément à l'état sec les deux récoltes obtenues en même temps ; et le rapport numérique des poids de ces deux récoltes mesurera l'influence de la circonstance dont il s'agit. L'analyse des produits de la végétation viendra au besoin compléter les résultats de la synthèse. En faisant ainsi varier un à un tous les éléments du problème, on embrassera jusque dans ses moindres détails le phénomène de la végétation.

D'ailleurs cette méthode se présente d'elle-même à l'esprit : le problème du développement des végétaux dans un milieu artificiel une fois posé, c'est la seule méthode qu'on puisse imaginer pour le résoudre, et il n'y a à l'indiquer absolument aucun mérite.

Mais avant de pouvoir la mettre en pratique, il y a plus d'une difficulté à vaincre :

1° Le point capital est de *réaliser un milieu artificiel propre au développement du végétal* qu'on veut étudier : c'est là une découverte d'une importance, d'un mérite incontestables, à laquelle peuvent seuls conduire des travaux suivis sur la végétation, et non le hasard ; car parmi les milieux innombrables qu'on pourrait former en mélangeant de toutes les manières toutes les substances chimiques définies, il n'en est qu'un très-petit nombre qui conviennent à la nutrition d'un végétal déterminé.

2° Le végétal, pour croître vigoureusement, exige le concours d'un certain nombre d'éléments physiques et chimiques : si le milieu qui doit servir aux *essais types* dont j'ai parlé ne réunit qu'une partie de ces éléments essentiels, la végétation pourra progresser encore, mais chétive et lente. Dans ces conditions défavorables, le problème qui nous occupe ne pourra recevoir qu'une solution incomplète, puisque certains éléments importants de ce problème nous échappent. En outre, il deviendra difficile d'apprécier l'influence des circonstances qui se montreraient les plus actives dans un milieu bien choisi, car l'expérience prouve qu'elles font en général très-peu varier le poids de ces récoltes chétives obtenues dans un milieu mal approprié. Enfin, les causes d'erreurs restant à peu près les mêmes, plus la récolte sera faible, toutes choses étant égales, plus l'erreur relative sera grande. Aussi une fois en possession d'un milieu artificiel propre à la végétation, nous aurons avant tout à réaliser un progrès important : *Modifier les conditions du milieu qui doit servir aux essais types, pour accroître autant que possible le poids des récoltes obtenues dans un certain temps avec un poids constant de substances nutritives.*

3° Des *essais types*, placés dans des conditions aussi identiques que possible, donnent néanmoins des récoltes de poids variables entre une limite supérieure P et une limite inférieure P'. Or le rapport  $\frac{P'}{P}$ , qui fixe l'erreur relative maxima du procédé d'expérimentation, est très-important à considérer. En effet, si un essai type donne une récolte p, et un autre essai, qui diffère du premier par la suppression d'une certaine circonstance, une

récolte  $\omega$ , il ne suffit pas, pour conclure que cette circonstance produit sur la végétation un effet utile, qu'on ait  $\frac{\omega}{p} < 1$ ; il faut encore que  $\frac{\omega}{p}$  soit  $< \frac{P'}{P}$ . Le procédé sera donc d'autant plus parfait au point de vue de l'exactitude numérique, que  $\frac{P'}{P}$  sera plus voisin de l'unité, c'est-à-dire que *les essais types fourniront des récoltes plus constantes*; car plus  $\frac{P'}{P}$  se rapprochera de l'unité, plus l'effet mesuré par un même nombre  $\frac{\omega}{p}$  sera nettement appréciable.

En résumé, le degré de perfection de la méthode dont nous nous servirons dépend essentiellement de trois conditions générales :

1° Il faut avant tout découvrir un milieu artificiel propre au développement du végétal qu'on étudie.

2° Le poids des récoltes que peut fournir le milieu destiné aux essais types, dans un temps donné, avec un poids constant de substances nutritives doit être, toutes choses égales d'ailleurs, aussi grand que possible.

3° Les essais types placés dans les mêmes conditions doivent fournir des récoltes dont les rapports numériques s'écartent très-peu de l'unité : celui de ces rapports qui s'en écarte le plus fixe l'*erreur relative maxima du procédé*.

Il y a encore bien d'autres conditions à remplir; mais elles diffèrent d'une expérience à une autre, et ne doivent pas nous occuper ici.

*Réalisation des principes précédents.* — Ces principes ressortiront plus clairement de l'application que nous allons en faire à la végétation des Mucédinées, et en particulier de l'*Aspergillus*.

Ainsi que je l'ai établi précédemment, c'est à M. Pasteur que revient incontestablement le mérite d'avoir prouvé que les Mucé-

dinées peuvent se développer dans un milieu exclusivement formé de substances artificielles définies, et d'avoir découvert les éléments les plus essentiels à la végétation de ces plantes (voy. 1<sup>re</sup> partie, page 90). Il sema des spores de Mucédinées dans le mélange suivant :

Eau pure.....	1000
Sucre.....	20
Bitartrate d'ammoniaque.....	2
Cendres de levûre.....	0.5

Il vit ces Mucédinées (le *Penicillium* en particulier) acquérir un certain développement ; et en supprimant l'un quelconque de ces éléments, sucre, sel ammoniacal, ou matières minérales, il n'obtint plus que des traces de végétation. M. Pasteur, par cette découverte fondamentale, avait ouvert une voie nouvelle ; mais il ne pénétra guère plus avant dans ce genre d'études dont il avait saisi toute la portée.

Du reste, tout progrès important, dans la recherche des lois de ces végétations artificielles, était subordonné à un progrès dans la méthode que quelques chiffres vont mettre en relief.

Au début de mes recherches, je me rapprochai autant que possible des conditions indiquées par M. Pasteur ; j'abandonnai à l'étuve vers 20°, avec semences d'*Aspergillus*, des vases contenant le mélange suivant :

Eau.....	2000
Sucre.....	70
Nitrate d'ammoniaque.....	3
Acide tartrique.....	2
Phosphate d'ammoniaque.....	} en petite quantité.
Carbonate de potasse.....	
Carbonate de chaux.....	
Carbonate de magnésie.....	

Après quarante-cinq jours de végétation, j'obtins, dans deux essais de ce genre, des récoltes qui pesaient à l'état sec :

L'une..... 3<sup>gr</sup>,19 | L'autre..... 1<sup>gr</sup>,77

En supprimant *tous les éléments minéraux*, j'obtins dans les mêmes conditions les poids suivants :

Premier essai. . . . . 0<sup>gr</sup>,40 | Deuxième essai. . . . . 0<sup>gr</sup>,07

Enfin des essais dans lesquels le *carbonate de potasse* seul était supprimé, donnèrent respectivement les poids :

2<sup>gr</sup>,29 | 1<sup>gr</sup>,11

Ces nombres mettent en évidence l'influence des matières minérales sur le poids des récoltes; la nécessité du sucre et d'un élément azoté se traduirait par des résultats tout aussi concluants. Mais l'utilité de la potasse ne ressort pas nettement des chiffres qui précèdent; et pourtant je prouverai que la potasse est éminemment active sur la végétation des Mucédinées. Or, admettons que, les nombres trouvés en supprimant la potasse restant les mêmes, les récoltes avec engrais complet aient été constantes et égales à la plus forte, 3<sup>gr</sup>,19, on aurait déjà pu conclure avec certitude à l'efficacité de la potasse. Admettons encore que, les récoltes des milieux sans potasse restant toujours les mêmes, les récoltes avec engrais complet aient été dix fois plus fortes :

C'est-à-dire que l'une ait pesé . . . . .	31 <sup>gr</sup> ,9, au lieu de . . . . .	3 <sup>gr</sup> ,19
— l'autre . . . . .	47 <sup>gr</sup> ,7, au lieu de . . . . .	4 <sup>gr</sup> ,77

dès lors l'influence de la potasse était mise en pleine lumière.

Si donc, toutes choses restant égales d'ailleurs, on parvenait à rendre les récoltes des essais types plus constantes, et surtout plus fortes dans le même temps pour un même poids de sucre, on parviendrait sans doute à pénétrer plus avant dans l'analyse du phénomène de la végétation des Mucédinées : tel est le progrès que j'ai cherché à réaliser.

A priori, il n'était pas prouvé que ce progrès fût réalisable. A la vérité 3<sup>gr</sup>,19 de Mucédinée (page 108) obtenus en quarante-cinq jours avec plus de 70 grammes de matières nutritives indiquaient une végétation bien languissante : l'analyse confirmait cette prévision en montrant qu'après la récolte, il restait

encore dans le liquide artificiel les sept huitièmes du poids de chacun des éléments primitifs; et des végétations parallèles dans des liquides naturels d'origine organique se montraient incomparablement plus vigoureuses et plus rapides. Mais cette lenteur du développement des Mucédinées dans les milieux artificiels n'était-elle pas inhérente à la nature même de ces milieux? Les composés artificiels de la chimie, si éloignés des produits multiples élaborés sous l'action de la vie, n'étaient-ils pas moins assimilables que les substances naturelles issues des végétaux eux-mêmes? En voyant les influences les plus fugitives impressionner les végétaux, les moindres forces altérer les composés organiques qui les constituent, ne devait-on pas croire que l'art serait impuissant à réunir ces conditions délicates, favorables à la vie, que la nature réalise à merveille?

Ces craintes étaient pourtant atténuées par le fait que les végétaux supérieurs peuvent croître assez vigoureusement dans un milieu formé d'éléments salins (page 43). D'autre part, je remarquai que le développement des Mucédinées dans un milieu artificiel était assez rapide dans les premiers jours, puis se ralentissait indéfiniment. Je pensai alors que ce milieu artificiel contenait tous les éléments nécessaires à la vie du végétal; qu'il était par lui-même assez propre à l'assimilation; mais que la végétation, en le transformant, produisait quelque substance nuisible aux progrès de la Mucédinée. Je cherchai donc à rendre la marche de la végétation plus rapide, en modifiant les proportions ou les composés des éléments chimiques qui constituaient le milieu type: tous mes efforts furent infructueux.

Je me demandai enfin si les corps simples, que je réunissais sous des formes convenables dans le milieu type dont j'ai parlé, suffisaient à la vie du végétal: la présence en petite quantité de quelque autre élément essentiel à la végétation parmi les impuretés des substances employées suffisait dès lors à expliquer, et le développement incomplet du végétal dans un tel milieu, et le ralentissement observé après quelques jours. Cette hypothèse, je l'avoue, était assez invraisemblable, puisque j'avais réuni, pour composer le milieu type, précisément les substances regar-

dées jusqu'ici comme suffisant à la vie des végétaux supérieurs (page 50), et que la matière même de ces derniers fournit aux Mucédinées un excellent terrain : cependant cette hypothèse même a été justifiée par l'expérience.

C'est principalement en ajoutant aux éléments du milieu type indiqué à la page 108, du soufre, du zinc, du fer, du silicium, à l'état de sels; en modifiant les proportions des éléments essentiels; en portant à 35 degrés la température du milieu; en faisant développer les Mucédinées dans des vases peu profonds, dans des conditions convenables d'aération et d'humidité, que je suis parvenu aux résultats suivants :

Je puis obtenir en six jours, avec 80 grammes de matières nutritives, 25 grammes de récolte; ce poids constitue, dans le même temps et pour la même quantité d'aliments, un rendement 50 fois plus fort que le rendement des premières expériences.

Tandis que le poids des récoltes produites dans des essais types aussi identiques que possible variait, au commencement de mes recherches, dans le rapport de 1 à 4,8, je suis parvenu à rendre ce poids constant à  $1/20^{\circ}$  près de sa valeur.

Je dois également faire remarquer qu'il m'est arrivé plus d'une fois, dans le cours de mes recherches, de voir les milieuxensemencés avec des spores d'*Aspergillus* envahis par des végétations étrangères, principalement par le *Penicillium* : les résultats d'expériences qui se rapportaient à des végétaux d'espèces différentes n'étaient donc plus comparables. J'ai réussi enfin à me rendre complètement maître de cette difficulté.

En résumé, la méthode d'expérimentation fondée sur la végétation des Mucédinées dans les milieux artificiels formés de composés définis, était connue depuis les travaux de M. Pasteur; je l'ai appropriée à des recherches précises :

1° En augmentant considérablement le poids des récoltes fournies dans un certain temps par un certain poids de substances nutritives.

2° En rendant plus constant le poids des récoltes obtenues dans des essais semblables.

3° En forçant l'*Aspergillus niger* à se développer seul, sans mélange d'espèces étrangères.

Dans ce genre de recherches, bien des précautions sont nécessaires pour assurer aux résultats des expériences toute la précision qu'ils comportent ; aussi je vais décrire dans tous ses détails le procédé d'expérimentation auquel je me suis définitivement arrêté, et auquel sont dus les progrès que je viens de signaler.

*Description des appareils.* — Le local réservé pour ces recherches était parfaitement aéré ; la pureté de l'air n'y était troublée ni par les gaz des laboratoires, ni par d'autres émanations, condition indispensable pour la régularité des résultats, car les Mucédinées sont extrêmement sensibles à certaines influences délétères.

L'étuve (fig. 1, pl.) destinée à maintenir les végétations dans des conditions convenables de température, d'aération et d'humidité, se compose de trois parties : la caisse, contenant les vases en expérience ; l'appareil à chauffage ; un appareil destiné à répandre de l'humidité dans l'atmosphère.

1° La première partie consiste en une sorte d'armoire F, s'ouvrant antérieurement par une porte, et ayant 2 mètres de hauteur sur 70 centimètres de largeur et 40 centimètres de profondeur ; des tablettes distantes de 20 centimètres sont disposées pour recevoir les vases *m, m*, des expériences ; un courant d'air ascendant s'établit naturellement à l'aide d'ouvertures pratiquées dans le bas et dans le haut de l'étuve. Ce courant d'air ne doit être ni trop fort ni trop faible : on le règle en fermant plus ou moins les ouvertures supérieures.

2° L'appareil à chauffage BKGF est un système à circulation d'eau chaude : une chaudière de cuivre B, placée dans une salle voisine de celle où est l'étuve, communique avec des tuyaux de plomb K, G, F, convenablement distribués dans l'étuve. Cet appareil est complètement rempli d'eau que la chaleur du foyer met en circulation. Ce foyer *b* consiste en un bec à gaz de Bunsen, constamment allumé, et placé sous la chaudière ; les

produits de la combustion, après avoir circulé dans un serpentín E intérieur à la chaudière, s'échappent au dehors. Ce genre de chauffage m'a paru très-préférable au chauffage direct, parce qu'il ne peut pas introduire dans l'étuve des substances volatiles capables de modifier la végétation.

Cependant il importait encore, comme on le verra plus loin, que la température de l'étuve demeurât à peu près constante à 35 degrés. Aussi ai-je adapté à l'appareil de chauffage un instrument que je désigne sous le nom de *thermo-régulateur*, et qui maintient la température d'une étuve invariable à un degré près. Il consiste essentiellement en un gros thermomètre à alcool dont le réservoir *d* est dans l'étuve, et dont la tige *i*, sortant de l'étuve, communique avec la branche inférieure d'un tube *chr* en Y; les deux branches latérales de ce tube sont soudées avec le tuyau d'arrivée du gaz à chauffage, qui est forcé de traverser ces deux branches avant de se rendre au bec de Bunsen; du mercure, faisant suite à l'alcool du thermomètre, remplit la tige *ihcr*, jusqu'au point de croisement *c* des trois branches du tube en Y. Pour peu que la température de l'étuve s'élève, le liquide du thermomètre se dilate; le passage du gaz d'une branche à l'autre du tube en Y diminue, et la flamme du gaz à chauffage diminue également. Un abaissement de température de l'étuve produit un effet inverse. Cette température ne peut donc varier qu'entre des limites très-resserrées (1).

(1) *Note sur les régulateurs pour le chauffage par le gaz.* — La température d'un milieu (étuve, bain, etc.) chauffé par le gaz peut varier, soit lorsque la pression du gaz se modifie, soit lorsque la température extérieure vient à changer. Pour maintenir ce milieu à une température constante, on adapte à l'appareil à chauffage des *régulateurs automatiques*. Il existe des instruments de ce genre qui rendent la pression et, par suite, la flamme du gaz constante. Ils ne remédient donc qu'à l'une des deux causes de variations de température que j'ai signalées. Aussi a-t-on imaginé des régulateurs qui consistent en un thermomètre dont le réservoir plonge dans le bain, et dont le corps, dilatable par les moindres changements de son volume, fait varier l'arrivée du gaz à chauffage au brûleur. M. Bunsen, l'un des premiers, paraît avoir eu l'idée de cette application du thermomètre. L'air, à cause de la grandeur de son coefficient de dilatation, a été choisi d'abord pour ces appareils, comme *substance thermométrique*. Mais il présente une cause d'erreur notable qui tient à ce que son volume varie non-seulement avec la température, mais avec la pression qu'il supporte. Les liquides sont

3° L'air ambiant, surchauffé dans l'étuve à 35 degrés, devient nécessairement très-sec. Or nous constaterons plus loin qu'il est essentiel que cet air ait un état hygrométrique élevé. Pour atteindre ce but, on a disposé à côté de l'étuve un vase de Mariotte A qui contient de l'eau ordinaire. Cette eau passe à l'aide d'un tube *bb* dans un petit cristalliseur *s*, où elle se maintient à un niveau constant. Des mèches de coton *k* aspirent cette eau par capillarité, et la distribuent sur du coton qui recouvre une partie K des tuyaux de plomb de l'étuve. Le courant d'air qui effleure continuellement ce coton humide et chaud se charge de vapeur d'eau en quantité suffisante pour amener l'hygromètre de Saussure vers 70 degrés.

Les vases dans lesquels les végétations se développent doivent être peu profonds; en outre, ils doivent être inaltérables par les liquides qu'ils contiennent, comme je l'établirai plus loin. J'ai choisi définitivement des cuvettes de *porcelaine* rectangulaires, pouvant contenir 1500 centimètres cubes de liquide, ayant en profondeur 4 centimètres, en largeur 16 centimètres, en longueur 28 centimètres. Ces vases se placent sur les tablettes de l'étuve sans être couverts.

*Description des expériences.* — Après avoir décrit les appareils spéciaux qui ont servi aux recherches consignées dans ce

à l'abri de cet inconvénient, et le mercure, par ses propriétés générales, est celui qui convient au plus grand nombre de cas; mais il est peu dilatable, et les régulateurs fondés sur l'emploi de ce liquide sont peu sensibles. Pour remédier à cette imperfection, et pour rendre les appareils de ce genre commodes et exacts en même temps, j'ai adopté la disposition suivante (fig. 2, pl.) : R est un gros thermomètre de verre rempli de mercure jusqu'en *c*; le gaz à chauffage entre dans cet appareil par le tube S, pénètre dans une première chambre, passe de là dans une chambre intérieure par l'intervalle du tube qui les sépare et du niveau du mercure; enfin il sort en S' pour se rendre au brûleur. Le robinet *a* sert à fournir directement au bec à gaz la quantité de gaz minima dont on a besoin. La pièce supérieure de l'appareil est en fonte, disposée de manière à refroidir par le gaz lui-même la partie supérieure du mercure, à l'empêcher de s'évaporer, et en même temps à donner à l'appareil une grande sensibilité. Enfin une tige mobile *tt* d'acier est graduée en degrés centigrades; il suffit de la faire affleurer en *t* jusqu'à un certain point, pour qu'un bain chauffé au gaz et mis convenablement en relation avec le régulateur atteigne la température marquée en ce point et s'y maintienne.

mémoire, je vais indiquer en détail la suite des opérations à exécuter sur la végétation d'un *essai type*. Ces opérations sont au nombre de quatre : préparer le liquide artificiel ; l'ensemencer de spores d'*Aspergillus* ; faire végéter la Mucédinée ; récolter.

1° On réunit dans le vase destiné à l'*essai type* les substances chimiques suivantes :

Eau.....	1500
Sucre candi.....	70
Acide tartrique.....	4
Nitrate d'ammoniaque.....	4
Phosphate d'ammoniaque.....	0,60
Carbonate de potasse.....	0,60
Carbonate de magnésie.....	0,40
Sulfate d'ammoniaque.....	0,25
Sulfate de zinc.....	0,07
Sulfate de fer.....	0,07
Silicate de potasse.....	0,07

Ces substances doivent être pesées avec soin, et aussi pures que possible. Le mélange est abandonné à lui-même pendant quelques heures, pour que les matières solides aient le temps de se dissoudre ; enfin, pour le rendre homogène, on remue le liquide avec une spatule de porcelaine.

2° Pour ensemençer ce liquide, il suffit de promener sur toute son étendue l'extrémité d'un pinceau avec lequel on a recueilli des spores sur une végétation d'*Aspergillus* bien pure, qui ne soit pas trop desséchée ; ces spores se disséminent et restent flottantes à la surface du liquide.

Lorsqu'on ne possède point encore d'*Aspergillus*, il suffit, pour se procurer ce végétal à l'état pur, d'abandonner à l'étuve certaines substances naturelles, telles que de l'eau de levûre acidulée, du pain humide, des tranches de citron, une dissolution de tannin, ou encore la dissolution artificielle indiquée précédemment. Les spores d'*Aspergillus* qui se trouvent au nombre des germes de l'atmosphère peuvent tomber sur ces matières et s'y développer pêle-mêle avec d'autres organismes. Lorsqu'on voit apparaître l'*Aspergillus*, qui se distingue tout d'abord par

ses fructifications noires, on le sème à nouveau sur un liquide artificiel, et l'on finit par l'obtenir exempt de mélange.

3° *L'essai type* étant ainsi préparé, on le met à l'étuve, dont la température est réglée à 35 degrés, l'air humide, et constamment renouvelé.

Les spores ne tardent pas à se développer, et au bout de 24 heures, ou même de 18 heures si elles n'ont pas été soumises à une trop forte dessiccation, les filaments du mycélium forment à la surface du liquide, par leur enchevêtrement, une membrane continue, d'aspect blanchâtre. Lorsque l'atmosphère de l'étuve est assez humide, le courant d'air très-modéré ; lorsque les spores sont semées uniformément sur toute l'étendue du liquide, et qu'elles ne sont pas trop sèches ; lorsqu'enfin les vases qui les contiennent ont la forme rectangulaire, cette membrane couvre toute la surface du liquide. Mais, dans d'autres circonstances, j'ai souvent vu les spores se rassembler en certains points, et la membrane ne couvrir qu'une partie plus ou moins restreinte de la surface du liquide : cet accident est à éviter, car si la surface des végétations varie d'un essai à un autre, les résultats ne seront plus comparables. La cause de ce rassemblement des spores se trouve évidemment dans les mouvements que leur impriment les courants d'air, et dans le phénomène de l'attraction capillaire de petites sphères qui flottent à la surface d'un liquide. Il est encore à remarquer que jamais la végétation n'est partielle sur un liquide qu'on ensemence pour la seconde fois après avoir enlevé une première végétation.

Au bout de 48 heures, la membrane dont j'ai parlé est déjà très-épaisse ; elle devient d'abord jaunâtre, puis elle passe au brun foncé. Enfin, après trois jours de végétation, elle est devenue tout à fait noire à sa surface supérieure. Ce changement de teinte est dû à l'apparition des spores, qui passent successivement du jaune au brun et au noir. C'est après trois jours complets de végétation qu'on récolte la moisissure.

Celle-ci enlevée, on sème de nouveau des spores sur le liquide, on remet le vase à l'étuve, et trois jours après on obtient une nouvelle récolte plus faible que la première. Le liquide restant,

dans les conditions où nous nous sommes placés, est alors à peu près épuisé et incapable de donner une troisième récolte appréciable.

4° Pour récolter l'*Aspergillus*, on enlève avec les doigts la membrane très-consistante qui s'est formée le troisième jour; on la presse fortement dans la main pour exprimer la majeure partie du liquide qui l'imprègne; on l'étend sur une soucoupe, et on la fait sécher, d'abord vers 50° avec la chaleur perdue du foyer de l'étuve, puis à 100°, à l'étuve de Gay-Lussac. Il ne reste plus qu'à la peser.

Il est maintenant facile de comprendre comment on fera une expérience complète destinée à faire ressortir l'influence d'un élément déterminé sur la végétation. On préparera l'*essai type* comme je l'ai dit; on disposera un *second essai* qui ne diffère du premier que par le seul élément dont on veut apprécier l'influence; on placera ces deux essais à l'étuve l'un à côté de l'autre; on fera deux récoltes successives dans chaque vase, comme je l'ai expliqué; on les pèsera à l'état sec. L'influence de l'élément en question sera mesurée par le rapport des poids des récoltes obtenues après les trois premiers jours de végétation dans le *second essai* et dans l'*essai type*. En prenant le rapport des poids des récoltes *totales* fournies en six jours par les deux essais, on aura un second nombre qui mesurera encore l'influence du même élément, mais avec plus d'exactitude.

Ce procédé offre donc l'avantage de représenter chaque résultat par deux nombres qui se complètent et se vérifient réciproquement.

Quand on tient à obtenir des nombres très-exacts, il importe de ne comparer que des essais placés *simultanément* à l'étuve: les circonstances extérieures, température, humidité, durée de végétation, etc., sont alors plus égales de part et d'autre, et les résultats sont plus constants que si les deux végétations s'étaient développées à des époques différentes.

Un simple exemple fera comprendre immédiatement comment on applique ce procédé:

On a mis à l'étuve les essais suivants dans le but d'étudier l'effet de la *potasse* sur le développement de l'*Aspergillus* :

N° 1. Milieu type de la page 115 : eau, 1500 ; sucre, 70, etc. (spores d'*Aspergillus*).

N° 2. Comme le n° 1, moins la potasse.

	N° 1.	N° 2.
Première récolte (après trois jours).....	14,4	0,80
Deuxième récolte (après trois autres jours)....	10,0	0,12
Récoltes totales.....	24,4	0,92
Rapport des poids des deux premières récoltes....	$\frac{0,8}{14,4} = \frac{1}{18}$	
Rapport des poids des récoltes totales.....	$\frac{0,92}{24,4} = \frac{1}{26}$	

Ces deux rapports, et surtout le second, mettent bien en évidence l'efficacité de la potasse dans la végétation; et cet exemple indique suffisamment la marche à suivre dans les études de ce genre. Il confirme d'ailleurs ce que j'ai avancé à la page 111, que j'ai réussi à accroître considérablement le poids des récoltes des essais types; il met en relief les avantages de ce perfectionnement, puisque l'utilité de la potasse, qui ne ressortait pas de l'expérience de la page 109, devient ici incontestable.

Deux autres essais types, mis à l'étuve en même temps que le n° 1, ont produit en six jours, par deux récoltes, chacun 24 grammes. Le n° 1 avait donné 24<sup>gr</sup>,4. Le rapport de ces deux nombres est  $\frac{24,4}{24} = 1,02$ , résultat conforme à ce que j'ai dit à la page 111, sur l'invariabilité de poids des récoltes obtenues dans les essais types.

D'autre part, deux essais types, placés à l'étuve dans des conditions aussi identiques que possible à celles du n° 1, mais à une autre époque, ont donné en six jours des récoltes égales à 26<sup>gr</sup>,5 et 26<sup>gr</sup>,3. Ces deux nombres diffèrent des deux précédents de 1/10<sup>e</sup> de leur valeur environ, et prouvent, comme je l'ai dit page 117, que les essais mis à l'étuve à des époques différentes

donnent des résultats moins comparables que ceux qui y ont été placés en même temps.

Telle est la forme la plus exacte et la plus parfaite que j'aie réussi à donner à la méthode dont je me suis servi ; mais on remarquera dans l'exposé de ces recherches que, plus d'une fois, lorsque je n'avais pas besoin d'une grande précision numérique, je ne me suis pas astreint à toutes les précautions que j'ai indiquées.

Avant d'exposer les résultats auxquels cette méthode m'a conduit, il me reste à décrire les caractères précis auxquels on reconnaît l'*Aspergillus niger*.

L'aspect qu'offre ce végétal dans son développement (voy. page 116) suffit dans bien des cas pour le distinguer des autres Mucédinées. Lorsqu'on veut le reconnaître sûrement, il faut recourir aux caractères micrographiques suivants, que M. Van Tieghem a déterminés dans ses recherches sur la fermentation gallique :

« Stipites erecti, simplices, continui, ad basim geniculati ;  
» capituli basidiis elongatis, radiatis, confertis, omnino tecti.  
» Catenæ sporarum fasciculatim junctæ, subæquales. Sporæ  
» sphericæ, verrucosæ, nigrescentes, 0<sup>mm</sup>,004 ad 0<sup>mm</sup>,005 dia-  
» metro æquantæ. » (Voy. fig. 3, pl.)

C'est aussi M. Van Tieghem qui a le premier classé scientifiquement cette Mucédinée, et l'a nommée *Aspergillus niger* (1).

## II

### DE L'INFLUENCE QUE DIVERS ÉLÉMENTS PHYSIQUES OU CHIMIQUES EXERCENT SUR LE DÉVELOPPEMENT DE L'*Aspergillus niger*.

En faisant varier une à une les diverses circonstances qui peuvent influer sur la végétation de l'*Aspergillus*, j'appliquerai la méthode précédemment exposée à la recherche des effets de chacune d'elles.

(1) *Annales des sciences naturelles*, 5<sup>e</sup> série, vol. VIII, p. 240.

*Influence de la durée de la végétation sur le développement de l'Aspergillus.* — Il m'a paru utile de suivre le développement progressif de l'*Aspergillus* aux diverses époques de la végétation; dans ce but, j'ai mis en même temps à l'étuve quatre vases contenant chacun des semences d'*Aspergillus* avec une dissolution composée de :

Eau.....	500
Sucre.....	13,30
Acide tartrique.....	1,50
Nitrate d'ammoniaque.....	0,58
Phosphate d'ammoniaque.....	0,10
Carbonate de potasse.....	0,10
Carbonate de magnésie.....	0,08
Sulfate d'ammoniaque.....	0,05
Sulfate de fer.....	0,02
Sulfate de zinc.....	0,02
Silicate de potasse.....	0,02

En recueillant les moisissures formées, après des intervalles de temps inégaux, j'ai obtenu les résultats suivants, que j'ai du reste vérifiés en répétant l'expérience :

	POIDS DES RÉCOLTES.	RAPPORT des poids des récoltes au nombre de jours.	ACCROISSEMENT du poids des récoltes.
1 <sup>er</sup> essai.	Après 1 j. de végétation. <sup>gr</sup> 0,25	$\frac{0,25}{1} = 0,25$	Pendant le 1 <sup>er</sup> jour. <sup>gr</sup> 0,25
2 <sup>e</sup> essai.	— 2 jours..... 2,00	$\frac{2}{2} = 1,00$	Pendant le 2 <sup>e</sup> jour. 1,75
3 <sup>e</sup> essai.	— 3 jours..... 2,90	$\frac{2,9}{3} = 0,97$	Pendant le 3 <sup>e</sup> jour. 0,90
4 <sup>e</sup> essai.	— 4 jours..... 3,30	$\frac{3,3}{4} = 0,82$	Pendant le 4 <sup>e</sup> jour. 0,40

On voit, par la seconde colonne de ce tableau, que la végétation fait des progrès continuels pendant quatre jours au moins.

Les nombres de la quatrième colonne représentent les poids de

Mucédinée qui doivent se former successivement pendant l'unité de temps dans un même essai : ces poids croissent d'abord jusqu'à un maximum, qu'ils atteignent vers le second jour pour diminuer ensuite. Ce résultat s'explique facilement : les organes en voie de formation naissent des organes déjà formés ; voilà pourquoi tout d'abord les parties de l'*Aspergillus* qui se développent dans un temps donné sont d'autant plus nombreuses que les parties déjà développées sont plus considérables. A mesure que la membrane qui résulte de l'enchevêtrement du mycélium s'épaissit, elle s'oppose de plus en plus au contact de l'oxygène de l'air et des éléments du liquide sous-jacent, condition indispensable à la formation de nouveaux organes ; en même temps le liquide en contact immédiat avec cette membrane s'appauvrit en éléments nutritifs. Par ces deux causes, l'accroissement du végétal ne devra donc pas tarder à se ralentir : c'est en effet ce qu'on observe dès le troisième jour.

La troisième colonne du tableau conduit à une conséquence qu'il est utile de connaître. Dans les essais sur la végétation, on doit viser à obtenir, toutes choses égales d'ailleurs, le poids de récolte le plus considérable dans le même temps. Or, les poids moyens de Mucédinée formés en vingt-quatre heures sont à peu près égaux dans le deuxième et dans le troisième essai, et plus forts que dans le premier et dans le quatrième. On devra donc, dans la pratique, faire les récoltes après deux ou trois jours de végétation ; mais comme, d'autre part, il faut restreindre le nombre des opérations autant que possible, le mieux sera de fixer à trois jours l'intervalle des récoltes successives de chaque essai : telle est la règle qui a été adoptée page 116.

La formation des fructifications suit une marche analogue ; seulement, ces organes ne commencent à paraître que vers le second jour ; ils passent du jaune au brun et au noir, et à la fin du troisième jour, quand toutes les circonstances favorables sont réunies, ils sont parvenus à maturité : la limite de leur accroissement est à peu près atteinte.

*Influence de la température sur la végétation de l'Aspergillus.*

— Parmi les circonstances physiques qui influent sur la végétation de l'*Aspergillus*, la température doit spécialement fixer notre attention.

Pour en mesurer les effets, j'ai mis à l'étuve, à des températures différentes, des vases de porcelaine contenant chacun 700 centimètres cubes d'eau, 49 grammes de sucre, et les autres substances nécessaires, en proportions convenables. Les moisissures recueillies et pesées après trois jours de végétation ont donné les résultats suivants :

Températures.	Poids des récoltes.
	gr
19° (centigrades).....	0,3
22 " .....	0,6
27 " .....	4,2
29 " .....	2,5
32 " .....	3,5
34 " .....	4,2
37 " .....	3,8
39 " .....	3,0
42 à 43 " .....	traces

C'est vers 35° que la récolte paraît atteindre, toutes circonstances étant égales d'ailleurs, son poids maximum ; ce poids diminue, lentement d'abord, plus rapidement ensuite, de part et d'autre de 35°, jusqu'à 19° d'une part et 42° de l'autre, qui sont à peu près les limites extrêmes de la végétation de l'*Aspergillus*.

Pour déterminer plus exactement la température du maximum des récoltes, j'ai répété l'expérience qui précède en faisant varier la température vers 35°, et en opérant successivement dans l'air sec et dans l'air humide. Voici les résultats qui fixent ce maximum à 34 degrés centigrades :

*Expérience dans l'air sec (hygromètre de Saussure, 10 degrés.)*

Températures.	Poids des récoltes.
"	gr
29,0 .....	2,7
33,0 .....	4,0
38,5 .....	3,0
39,5 .....	2,7

Poids maximum vers 34 degrés.

Expérience dans l'air humide (hygromètre de Saussure, 70 degrés).

Température.	Poids des récoltes.
32,0 .....	4,16
34,0 .....	4,60
36,0 .....	4,10
Maximum vers 34 degrés.	

Si au-dessous de 19° l'*Aspergillus* ne se développe plus sensiblement, cela tient à ce que la végétation de cette Mucédinée est paralysée par des Mycodermes et des Infusoires qui envahissent le liquide ; mais si l'on éloigne ces productions étrangères, l'*Aspergillus* se développe encore. En voici la preuve. Si l'on fait séjourner à l'étuve, à 35°, pendant vingt-quatre heures, un essai avec liquide artificiel et semences d'*Aspergillus*, il se forme une membrane de mycélium ; si on l'abandonne alors pendant plusieurs jours vers 15° ou 16°, les organismes étrangers ne se forment plus, et le poids de la membrane s'accroît sensiblement.

J'ai suivi également le développement des fructifications à diverses températures, en opérant dans un air humide, qui est plus favorable à la formation des spores qu'un air sec :

Un essai maintenu à une température inférieure à 20° pendant plus de quinze jours n'a pas produit de fructifications ; la surface supérieure de la moisissure est restée blanche.

Une autre moisissure à 24° est devenue légèrement brune après douze jours de végétation ; après quinze jours, elle a commencé à noircir.

A 31°, j'ai vu la teinte blanche du mycélium de l'*Aspergillus* passer au jaune brun le troisième jour ; après quatre jours, elle est devenue noire.

A 34°, la teinte jaune apparut après trente-six heures ; le troisième jour, toute la surface de la moisissure était noire.

A 38°, une moisissure ne brunit qu'après trois jours ; le quatrième, elle devint noire.

A 41°, la teinte blanche se modifia encore, mais avec beaucoup de lenteur.

C'est donc également vers 34° que les fructifications se forment le plus rapidement ; à mesure qu'on s'éloigne de cette température, leur apparition devient de plus en plus lente, et les limites extrêmes de leur développement sont un peu plus resserrées que celles du développement du mycélium.

La température dont je viens de parler a besoin d'être définie exactement : c'est la température même du liquide sur lequel végète la *Mucédinée*. Elle ne doit pas être confondue avec la température de l'atmosphère de l'étuve, qui est sensiblement plus élevée, comme l'indiquent les nombres suivants :

Circonstances essentielles de la végétation.	Température du liquide.	Température de l'air de l'étuve.
La végétation s'opère dans une capsule découverte de 700 <sup>es</sup> ,0 ; un hygromètre à cheveu placé dans l'étuve marque 10 degrés.	33,0	38,0
	36,0	42,0
Capsule fermée par une lame de verre (hygromètre, 10 degrés) . . . . .	35,0	36,0
Capsule ouverte ; hygromètre, 60 degrés . . . . .	34,0	36,5
	38,5	41,5
Capsule ouverte ; hygromètre, 70 degrés . . . . .	34,0	35,0

Cette différence entre les températures correspondantes de l'air et du liquide est due évidemment au refroidissement du liquide par évaporation : car elle est plus grande dans un vase découvert que dans un vase couvert, plus grande à 40° qu'à 36°, plus grande dans l'air sec que dans l'air humide ; en un mot, elle augmente avec les circonstances qui activent l'évaporation.

Dans la pratique, il convient, pour favoriser autant que possible le développement de l'*Aspergillus*, de maintenir à 34° la température des dissolutions artificielles sur lesquelles il végète, ou encore de porter à 35° la température de l'air de l'étuve, pourvu que l'hygromètre de Saussure y marque 70° : ce sont ces conditions que j'ai indiquées dans l'exposé de la méthode (page 116).

*Influence de l'état hygrométrique de l'air sur la végétation de l'Aspergillus.* — L'état hygrométrique de l'air en contact avec les essais exerce sur eux une influence complexe :

1° La membrane organisée qui sépare le liquide nutritif de

l'air ambiant ne protège pas ce liquide contre l'évaporation ; et celle-ci est d'autant plus forte que l'état hygrométrique de l'air est plus faible : j'ai vu souvent le volume du liquide de mes essais se réduire à la moitié ou au tiers du volume primitif pendant la durée de la végétation, lorsque les vases étaient découverts et le liquide à la température de 34°, l'hygromètre de Saussure marquant 10° dans l'air de l'étuve.

2° La sécheresse de l'air, en général, met obstacle à la formation des fructifications. Par exemple, la température du liquide étant à 34°, si l'hygromètre à cheveu marque 60°, les fructifications apparaissent à la fin du second jour et atteignent leur complet développement à la fin du troisième. Mais si l'hygromètre ne marque que 10°, la membrane de la Mucédinée présente à la fin du second jour une surface lisse et non veloutée comme dans le premier cas ; elle ne commence guère à brunir que le troisième jour, et de place en place ; même à la fin du sixième jour, les fructifications ne couvrent pas encore toute la surface.

3° L'état hygrométrique exerce une influence spéciale sur le poids des récoltes ; en voici un exemple :

Deux séries de végétations parallèles, dans l'air sec et dans l'air humide.				Première série, Hygromètre, 10° 0.	Deuxième série, Hygromètre, 60° 0.
Température, 34° 0.	Aspect après 12 heures :	Pas le moindre développement.		Les spores commencent visiblement à germer.	
— 34° 0	— 24 — :	Commencement de germination.		Pellicule couvrant déjà toute la surface.	
— 34° 0.	Récoltes après 2 jours . . . .	1,7	2,5		
— 29°	— 3 —	2,8	2,9		
— 33°	— 3 —	4	4,2		
— 38°	— 3 —	2,5	3,2		

On voit par ce tableau que la végétation dans l'air sec est d'abord en retard sur la végétation dans l'air humide ; puis cette différence s'efface, et après trois ou quatre jours les récoltes tendent à devenir à peu près égales.

En second lieu, les récoltes obtenues dans des circonstances déterminées sont moins constantes dans l'air sec que dans l'air humide :

Des vases contenant 700 centimètres cubes d'eau, 19 grammes

de sucre et le reste à proportion, ont donné dans l'air humide les récoltes suivantes :

N <sup>os</sup> 1.....	gr. 4,3
2.....	4,3
3.....	4,7

Rapport de la plus forte à la plus faible récolte : 1,1.

Des vases semblables aux premiers, mais placés dans l'air sec, ont donné les résultats :

N <sup>os</sup> 1.....	gr. 3,2
2.....	3,8
3.....	4
4.....	4,2

Rapport des deux récoltes extrêmes : 1,3.

L'effet de l'état hygrométrique de l'air sur l'évaporation du liquide explique les effets observés sur la végétation : par suite de cette évaporation, la dissolution en contact avec le végétal se concentrera plus ou moins, circonstance qui influe généralement, comme on le verra plus loin, sur le poids des récoltes. Mais cette concentration sera surtout très-forte dans les cellules superficielles de la membrane du mycélium : or, la concentration des liquides, poussée à l'excès, nuit au point d'arrêter tout progrès de la végétation ; il n'est donc pas étonnant que les fructifications qui naissent sur les cellules superficielles soient, par cette circonstance, entravées dans leur développement.

Il résulte de ce qui précède que la vapeur d'eau qui est contenue naturellement dans l'air de l'étuve chauffé à 35°, et qui correspond à 10° de l'hygromètre de Saussure, ne suffit pas pour assurer la marche régulière de la végétation ; si l'on veut obtenir des résultats très-exacts, il faut ajouter de la vapeur d'eau à l'atmosphère, de manière à amener l'hygromètre de Saussure vers 60° ou 70°. On a fait précédemment (page 114) l'application de ce principe.

*Influences diverses.* — C'est principalement par son oxygène que l'air intervient dans la végétation de l'*Aspergillus*, car cette

Mucédinée respire en transformant, à l'aide de l'oxygène atmosphérique, le carbone du sucre en acide carbonique. Cet élément est donc indispensable au développement de cette plante. La nécessité du renouvellement de l'air est une conséquence de ce principe : aussi, dans un vase clos, les progrès de la végétation ne tardent pas à s'arrêter lorsque l'oxygène libre est épuisé.

Cependant l'air ne doit pas être renouvelé avec une vitesse supérieure à celle qui suffit à fournir amplement au végétal l'oxygène dont il a besoin : car, outre qu'une vitesse exagérée nécessite une plus grande dépense de calorique, elle imprime aux spores récemment semées des mouvements qui retardent la germination, et les empêchent de se développer uniformément sur toute la surface du liquide. En résumé, le renouvellement de l'air, pour être efficace, doit être continu et modéré, comme nous l'avons indiqué page 112.

La nature des vases dans lesquels s'accomplit la végétation n'est pas sans influence. Si la substance d'un vase est attaquant par le liquide artificiel qu'il renferme, l'action favorable ou nuisible qu'il peut exercer sur le végétal est déterminée par la nature des éléments qu'il cède au liquide. Or, on verra plus loin (page 133 et suivantes) comment un grand nombre d'éléments chimiques agissent sur la végétation. Le choix que nous avons fait (page 114) de vases de *porcelaine* a été déterminé par cette considération que la porcelaine est à peu près insoluble dans les dissolutions artificielles dont nous devons nous servir.

*Influence de la forme des vases.* — La forme même de ces vases et le développement de l'*Aspergillus* ont entré eux des relations simples dont je vais préciser le sens :

1° Toutes choses égales d'ailleurs, le développement de la Mucédinée est plus rapide dans un vase découvert que dans un vase couvert. Voici une expérience à l'appui de cette proposition :

Le 3 octobre 1868, on a mis à l'étuve les deux essais suivants :

N° 1. Vase de porcelaine *découvert* contenant :

Eau.....	1500
Acide tartrique.....	4
Sucré.....	70

Matière azotée et matières minérales en proportions convenables. Spores d'*Aspergillus*.

N° 2. Vase *recouvert* d'une lame de verre, semblable d'ailleurs au n° 1.

	N° 1.	N° 2.	Rapports des récoltes correspondantes.
6 octobre, 1 <sup>re</sup> récolte.....	gr. 18,5	gr. 15,5	1,2
9 octobre, 2 <sup>e</sup> récolte.....	7,8	7,5	1,04

Dans le vase *découvert*, l'évaporation est plus active que dans le vase *couvert* : on peut donc croire que l'excédant de poids du n° 1 est dû aux substances du milieu artificiel, qui imprègnent la récolte en quantité d'autant plus grande que le liquide est plus concentré par l'évaporation. Pour lever cette incertitude, j'ai répété l'expérience précédente ; seulement j'ai débarrassé les récoltes de leurs matières solubles en les triturant dans l'eau froide :

N° 1. Vase *découvert* avec mélange artificiel et spores.

N° 2. Vase *couvert* avec mélange artificiel et spores.

On a mis ces vases à l'étuve le 15 novembre 1868.

	N° 1.	N° 2.	Rapport des récoltes correspondantes.
18 novembre, 1 <sup>re</sup> récolte.....	gr. 16,8	gr. 14,8	1,14
21 novembre, 2 <sup>e</sup> récolte.....	6,5	6,2	1,05

Nous retrouvons ici, dans le vase *découvert*, des excédants de poids comparables à ceux de la première expérience, qui ne peuvent cette fois être attribués qu'à un excédant réel de récolte.

2° Toutes choses égales d'ailleurs, le développement de la Mucedinée est d'autant plus rapide, que le liquide nutritif est moins profond :

*Expérience du 21 mars 1868.*

	Épaisseur du liquide.				
	c.				
N <sup>os</sup> 1. Liquide artificiel contenant : eau, 1000 ; sucre, 26,6, etc. Spores . . . . .	1,91				
2. Idem . . . . .	2,66				
3. Idem . . . . .	6,58				
4. Idem . . . . .	14,10				
5. Idem . . . . .	20,00				

	N <sup>o</sup> 1.	N <sup>o</sup> 2.	N <sup>o</sup> 3.	N <sup>o</sup> 4.	N <sup>o</sup> 5.
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
1 <sup>re</sup> récolte, 24 mars. Poids de la 1 <sup>re</sup> récolte . . . . .	7,8	6,8	3,5	1,6	1,3
2 <sup>e</sup> récolte, 27 mars. Somme des deux 1 <sup>res</sup> récoltes . . . . .	8,8	8,6	5,9	3,2	2,5
3 <sup>e</sup> récolte, 31 mars. Somme des trois 1 <sup>res</sup> récoltes . . . . .	8,9	8,8	7,5	4,6	3,7
4 <sup>e</sup> récolte, 3 avril. Somme des quatre 1 <sup>res</sup> récoltes . . . . .	8,9	8,8	8,0	5,8	4,6
5 <sup>e</sup> récolte, 7 avril. Somme des cinq récoltes réunies . . . . .	8,9	8,8	8,15	6,5	5,3

On peut encore objecter ici que, dans les vases peu profonds, le liquide se concentre fortement par l'évaporation ; que, par suite, la proportion des substances de ce liquide qui imprègnent la récolte devient plus considérable : que c'est là la cause des différences observées. Cette objection ne peut s'appliquer aux résultats suivants, qui se rapportent à des récoltes débarrassées des matières solubles qu'elles ont absorbées.

*Expérience du 31 mars 1868.*

	Épaisseur.		
N <sup>os</sup> 1. Essai contenant 200 <sup>cc</sup> d'eau ; 5,33 de sucre, etc. . . . .	1	centimètre.	
2. Idem . . . . .	2	—	
3. Idem . . . . .	3	—	

	N <sup>o</sup> 1.	N <sup>o</sup> 2.	N <sup>o</sup> 3.
	gr.	gr.	gr.
1 <sup>re</sup> récolte, 3 avril. Poids de la 1 <sup>re</sup> récolte . . . . .	2,20	1,70	0,45
2 <sup>e</sup> récolte, 7 avril, 1 <sup>re</sup> récolte et 2 <sup>e</sup> récolte réunies . . . . .	2,35	2,05	1,00

Voici le résumé d'une expérience de vérification faite dans des conditions plus complexes que les précédentes : les volumes, la forme de la surface libre et la profondeur des liquides différaient d'un essai à un autre.

*Matières nutritives proportionnelles au volume. Spores d'ASPERGILLUS.*

	Volume du liquide. cc.	Forme du vase.	Profondeur. c.
N° 1.....	900,0	Vase circulaire.....	6,2
2.....	2750,0	Vase circulaire.....	4,6
3.....	150,0	Vase rectangulaire.....	4,3
4.....	1500,0	Vase rectangulaire.....	2,8
5.....	250,0	Vase rectangulaire.....	2,5
6.....	1250,0	Vase circulaire.....	2,2
7.....	450,0	Vase circulaire.....	1,9

On a mis ces vases à l'étuve le 21 mai 1868.

*Poids des récoltes rapportés par le calcul à un volume de liquide = 1000<sup>cc</sup>.*

	N° 1.	N° 2.	N° 3.	N° 4.	N° 5.	N° 6.	N° 7.
	—	—	—	—	—	—	—
	gr.						
1 <sup>re</sup> récolte, 24 mai. Poids de la 1 <sup>re</sup> récolte.....	6,7	6,7	11,0	12,0	16,0	15,5	18,2
2 <sup>e</sup> récolte, 27 mai. Somme des deux 1 <sup>res</sup> récoltes..	11,6	12,6	15,3	16,0	18,0	17,5	18,5
3 <sup>e</sup> récolte, 1 <sup>er</sup> juin. Somme des trois 1 <sup>res</sup> récoltes..	14,5	15,8	16,2	17,2	17,2	17,2	18,2
4 <sup>e</sup> récolte, 4 juin. Somme totale des récoltes.....	15,5	16,2	16,2	17,2	17,7	17,2	18,2

Ces résultats, dans leur ensemble, confirment la loi relative à l'influence de la profondeur.

Les essais n° 3, n° 4, n° 5, n° 6, n° 7 n'ayant rien produit le 4 juin, ont fourni le poids total de récolte qu'ils étaient capables de donner. Or, ces récoltes définitives ne sont pas tout à fait égales; elles augmentent à mesure que la profondeur du liquide diminue; de là cette conséquence :

3° Le poids total des récoltes que peut produire un certain poids d'une même dissolution n'est pas tout à fait constant; il varie légèrement, en sens inverse de l'épaisseur du liquide sur lequel végète l'*Aspergillus*.

On peut encore remarquer que quelques nombres de l'expérience du 21 mai paraissent en désaccord avec les résultats des autres expériences : l'épaisseur du liquide étant plus faible dans le n° 6 que dans le n° 5, les premières récoltes devraient être plus fortes dans le n° 6 que dans le n° 5 ; c'est le contraire qui a lieu. De même, le n° 3 et le n° 2 ont pour épaisseurs 4<sup>c</sup>,3 et 4<sup>c</sup>,6, nombres sensiblement égaux ; cependant les sommes des récoltes successives présentent des différences notables du n° 2 au n° 3. Comment expliquer ces anomalies ? J'ai mesuré les surfaces libres des liquides du n° 2 et du n° 3, ainsi que les périmètres de ces surfaces ; j'ai calculé le rapport de chaque périmètre à la surface correspondante, et j'ai trouvé que le rapport du périmètre à la surface dans le n° 3 était cinq fois plus grand que dans le n° 2. De même le rapport du périmètre à la surface dans le n° 5 était plus grand que dans le n° 6. L'influence du périmètre de la surface du liquide sur la rapidité du développement du végétal suffit donc à expliquer pourquoi la végétation a été plus rapide dans le n° 3 que dans le n° 2, dans le n° 5 que dans le n° 6. De là ce principe :

4° Toutes choses égales d'ailleurs, le développement de l'*Aspergillus* est d'autant plus rapide, que le rapport du périmètre de la surface libre du liquide à la surface elle-même est plus élevé ; en d'autres termes, que, à égalité de surface, le périmètre est plus grand. Mais l'influence du périmètre est incomparablement moindre que celle de la profondeur.

Ces divers effets de la *forme des vases* sur la végétation sont en relation directe avec l'intervention nécessaire de l'*oxygène* de l'air dans le développement des Mucédinées. A mesure qu'on diminue l'épaisseur des liquides, on augmente la quantité d'air et, par suite, la quantité d'oxygène en contact avec chaque unité de masse de ces liquides, circonstance évidemment favorable à la rapidité de la végétation. En laissant les vases découverts, ou en augmentant le périmètre de ces vases sans faire varier la surface libre des liquides, on facilite le renouvellement de l'air et, par suite, l'accès de l'oxygène en chaque point de la Mucédinée ; on accélère donc encore le développement du vé-

gétal. Enfin, lorsqu'on enlève une récolte formée dans un essai, on la presse pour rejeter une partie du liquide qui l'imprègne; on rejette en même temps les matières nutritives de ce liquide, ce qui constitue pour la récolte suivante une perte de poids qui dépend de la quantité des substances rejetées : or, celles-ci augmentent lorsque l'oxygène fait défaut, parce qu'elles s'accumulent dans la Mucédinée sans se transformer entièrement en matière organisée. On s'explique alors pourquoi les vases profonds, dans lesquels le liquide offre à l'air ambiant une surface de contact insuffisante, fournissent des récoltes totales relativement faibles.

La meilleure forme à donner aux vases, au double point de vue de la rapidité de la végétation et du poids total des récoltes, est celle qui, toutes choses égales d'ailleurs, favorise le plus le contact de l'oxygène de l'air et du liquide artificiel. La forme des vases des *essais types*, décrite à la page 114, a été déterminée d'après ces considérations.

Nous avons examiné jusqu'ici les principales *circonstances physiques* du phénomène de la végétation : les *éléments chimiques* qui exercent quelque influence sur le développement de l'*Aspergillus* réclament à présent notre attention.

*Des sels minéraux vénéneux pour l'Aspergillus.* — En dehors des éléments qui font partie du *milieu artificiel* des essais types (page 115), certaines substances chimiques m'ont paru intéressantes à étudier, en vertu d'une double propriété : en tant que sels minéraux, elles se rapprochent *chimiquement* de la plupart des composés du milieu artificiel propre au développement de l'*Aspergillus*, qui sont également des sels; mais par leur action éminemment toxique sur la Mucédinée, elles contrastent *physiologiquement* avec les substances fertilisantes de ce milieu.

Pour apprécier l'activité de quelques-uns de ces sels, je les ai mêlés en proportions variables au milieu artificiel type, et j'ai comparé les progrès du végétal soumis à leur influence à la végétation normale.

*Expérience sur le nitrate d'argent.*

Le 16 juillet 1867, j'ai porté à l'étuve les essais suivants :

N <sup>o</sup> 1.	Eau, 500; sucre, 13,3; acide tartrique, 0,8; nitrate d'ammoniaque, 0,6; phosphate d'ammoniaque, 0,1; carbonate de potasse, 0,1; carbonate de magnésie, 0,1; sulfate d'ammoniaque, 0,05; sulfate de zinc, 0,03; sulfate de fer, 0,03; silicate de potasse, 0,03. Spores.....	Nitrate d'argent. gr. $\frac{1}{10\ 0000}$
N <sup>os</sup> 2.	Idem.....	$\frac{1}{20\ 000}$
3.	Idem.....	$\frac{1}{40\ 000}$
4.	Idem.....	$\frac{1}{80\ 000}$
5.	Idem.....	$\frac{1}{160\ 000}$
6.	Idem.....	$\frac{1}{320\ 000}$
7.	Idem.....	$\frac{1}{640\ 000}$
8.	Idem.....	$\frac{1}{800\ 000}$
9.	Idem.....	$\frac{1}{1\ 600\ 000}$
10.	Idem.....	$\frac{1}{3\ 200\ 000}$
11.	Idem.....	$\frac{1}{6\ 400\ 000}$
12.	Idem.....	0 ou 0

Après trois jours passés à l'étuve, les n<sup>os</sup> 1, 2, 3, 4 n'ont pas encore donné trace de végétation.

Les n<sup>os</sup> 5, 6, 7, 8, 9 présentent quelques flocons du mycélium à la surface du liquide.

Les n<sup>os</sup> 10, 11, 12 ont produit respectivement 2 grammes, 2<sup>gr</sup>,5, 2<sup>gr</sup>,5 de récolte à l'état sec; c'est-à-dire qu'ils n'ont pas subi d'action sensible de la part du sel d'argent.

L'azotate d'argent est donc éminemment vénéneux : il se

montre encore actif à la dose de 0<sup>sr</sup>,0003 pour 500 gram. de liquide, ou de 1/1 600 000<sup>e</sup> du poids de ce liquide ; car c'est là la proportion de sel d'argent du n° 9, sur la végétation duquel l'influence de ce sel a encore été manifeste. Au-dessous de cette limite, le nitrate d'argent devient à peu près inoffensif, comme l'indiquent les résultats des n° 10, 11, 12.

Cependant le nitrate d'argent se réduit peu à peu sous l'influence des matières organiques du milieu artificiel ; il finit donc par devenir inactif, après un certain nombre de jours, et alors même que la proportion de ce sel est d'abord supérieure à

$\frac{1}{1\ 600\ 000}$ , la végétation reprend son cours habituel.

En essayant de faire végéter l'*Aspergillus* dans un vase d'argent, j'ai été tout d'abord fort surpris de n'obtenir que des traces à peine appréciables de mycélium : cette particularité s'explique par l'action chimique du liquide artificiel sur le métal, qui se transforme, en proportions très-minimes, en sel d'argent qui réagit à son tour sur le développement du végétal. Les vases d'argent, contrairement à ce que j'avais présumé d'abord, sont donc tout à fait impropres aux expériences du genre de celles qui nous occupent.

*Expérience sur le bichlorure de mercure.*

Le 10 août 1867, j'ai mis à l'étuve les essais suivants :

N <sup>os</sup>	1. Eau, 200 ; sucre, 6 gr. ; acide tartrique azotate d'ammoniaque et matières minérales dans les proportions ordinaires. Spores.....	Bichlorure de mercure.	
		gr.	$\frac{1}{\text{---}}$
		0,050000 ou	$\frac{1}{4000}$
2.	Idem.....	0,025000 ou	$\frac{1}{8000}$
3.	Idem.....	0,012000 ou	$\frac{1}{16\ 000}$
4.	Idem.....	0,006000 ou	$\frac{1}{32\ 000}$
5.	Idem.....	0,003000 ou	$\frac{1}{64\ 000}$
6.	Idem.....	0,001500 ou	$\frac{1}{128\ 000}$

N <sup>os</sup> 7.	Idem.....	0,000800	ou	$\frac{1}{256\ 000}$
8.	Idem.....	0,000400	ou	$\frac{1}{512\ 000}$
9.	Idem.....	0,000200	ou	$\frac{1}{1\ 024\ 000}$
10.	Idem.....	0,000100	ou	$\frac{1}{2\ 048\ 000}$
11.	Idem.....	0,000050	ou	$\frac{1}{4\ 096\ 000}$
12.	Idem.....	0,000025	ou	$\frac{1}{8\ 192\ 000}$
13.	Idem.....	0,000000	ou	0

Le 13 août, les n<sup>os</sup> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 n'ont pas donné de végétation; le n<sup>o</sup> 8 a produit un seul flocon de mycélium.

Dans les n<sup>os</sup> 9, 10, 11, 12, l'*Aspergillus* a végété régulièrement; les fructifications ont apparu. Les récoltes, pesées à l'état sec, ont donné les nombres suivants :

Dans le n <sup>o</sup> 9.....	0,8
— n <sup>o</sup> 10. ....	1,1
— n <sup>o</sup> 11.....	0,9
— n <sup>o</sup> 12.....	1,2

Le chlorure de mercure s'est donc montré vénéneux jusqu'à la dose de  $\frac{1}{512\ 000}$ ; au-dessous de cette limite, il a été à peu près inactif.

*Expérience sur le bichlorure de platine (10 août 1867).*

N <sup>os</sup> 1.	Eau, 200; sucre, 6; acide tartrique, nitrate d'ammoniaque et matières minérales en proportions convenables. Spores d' <i>Aspergillus</i> .....	Bichlorure de platino.
		gr. $\frac{1}{4000}$
		0,0500 ou $\frac{1}{4000}$
2.	Idem.....	0,0250 ou $\frac{1}{8000}$
3.	Idem.....	0,0125 ou $\frac{1}{16\ 000}$
4.	Idem.....	0,0062 ou $\frac{1}{32\ 000}$
5.	Idem.....	0,0032 ou $\frac{1}{64\ 000}$
6.	Idem.....	0,0000 ou 0

Le 13 août, la végétation n'a point apparu dans les n<sup>os</sup> 1 et 2; le développement de la Mucédinée s'est effectué régulièrement dans les n<sup>os</sup> 3, 4, 5, où les poids de récolte sèche se sont élevés respectivement à 0<sup>gr</sup>,7, 1 gramme, 1<sup>gr</sup>,2.

Le bichlorure de platine a donc été vénéneux, mais seulement jusqu'à la dose minima 1/8000°.

Je n'ai pas fait d'expériences précises sur les sels d'étain, mais je me suis assuré qu'ils se comportent encore à l'égard de l'*Aspergillus* comme des poisons assez énergiques.

*Expérience sur le sulfate de cuivre, 1<sup>er</sup> mars 1867.*

N <sup>os</sup> 1. Eau, 480; Sucre, 13 nitrate d'ammoniac et autres matières dans les proportions du milieu type. Spores.....	Sulfate de cuivre.	
	gr.	
	3,0 ou	$\frac{1}{160}$
2. Idem. ....	2,0 ou	$\frac{1}{240}$
3. Idem. ....	1,0 ou	$\frac{1}{480}$
4. Idem. ....	0,5 ou	$\frac{1}{960}$
5. Idem. ....	0,0 ou	0

*Poids des récoltes.*

N <sup>os</sup> 1.....	4 mars.	7 mars.	Récolte
	1 <sup>re</sup> récolte.	2 <sup>e</sup> récolte.	totale.
	gr. 0,8	gr. 0,8	gr. 1,6
2.....	1,6	0,9	2,5
3.....	2,0	1,2	3,2
4.....	2,3	1,0	3,3
5.....	2,5	0,7	3,2

Le sulfate de cuivre dans les n<sup>o</sup> 1 et 2, c'est-à-dire à la dose de 1/160° et de 1/240° a sensiblement entravé les progrès de la végétation; mais il a été incomparablement moins actif que les sels précédents, car une proportion de sulfate de cuivre égale à 1/160° du poids du liquide a permis encore au végétal de se développer sensiblement.

D'ailleurs je ne prétends pas que les effets de ces sels doivent être attribués en totalité à l'oxyde métallique; et même en ce

qui concerne le *sulfate de cuivre*, l'effet observé appartient peut-être en entier à l'*acide sulfurique*.

J'ai reconnu en effet que l'*acide sulfurique libre* à la dose de 1/500° arrête complètement le développement de la Mucédinée ; mais cet acide, dans la proportion de 1/1000°, a paru dépouillé de toute action nuisible.

M. Van Tieghem a pourtant vu, dans ses recherches sur la fermentation gallique, le développement de l'*Aspergillus* résister à de fortes proportions d'acide sulfurique libre.

Ces deux observations ne sont pas contradictoires : peut-être en effet que l'action de l'acide sulfurique sur l'*Aspergillus* dépend de la composition du milieu nutritif auquel il est ajouté : or, M. Van Tieghem a principalement étudié cette Mucédinée dans des liquides organiques naturels, tandis que mes expériences se rapportent à des milieux artificiels. En particulier, on conçoit très-bien que, dans mes essais, l'acide sulfurique libre ait déplacé l'*acide nitrique* du nitrate d'ammoniaque, et que les effets apparents de l'acide sulfurique résultent en réalité de l'action de l'*acide nitrique* mis en liberté, que j'ai lieu de croire plus funeste à la végétation que l'acide sulfurique.

Ce qu'il faut remarquer principalement parmi les résultats qui précèdent, c'est que les sels d'argent, de mercure, de platine, sont pour l'*Aspergillus* des poisons très-violents dont la limite d'activité est inférieure aux nombres suivants :

Pour le nitrate d'argent.....	$\frac{1}{1\ 600\ 000}$
Pour le bichlorure de mercure.....	$\frac{1}{512\ 000}$
Pour le bichlorure de platine.....	$\frac{1}{8000}$

Après avoir examiné l'influence qu'exercent sur la végétation les circonstances extérieures au *milieu artificiel des essais types*, je vais aborder l'étude de l'action physiologique des substances de ce milieu ; ce sera la partie essentielle de ce mémoire.

Je rappellerai d'abord la composition du milieu des essais types indiquée page 115 ;

Eau .....	1500
Sucre candi.....	70
Acide tartrique.....	4
Nitrate d'ammoniaque.....	4
Phosphate d'ammoniaque.....	0,6
Carbonate de potasse. ....	0,6
Carbonate de magnésie.....	0,4
Sulfate d'ammoniaque.....	0,25
Sulfate de zinc.....	0,07
Sulfate de fer.....	0,07
Silicate de potasse.....	0,07

Pour réunir toutes les substances chimiques essentielles à la végétation de l'*Aspergillus*, il suffit de joindre à ce tableau l'*oxygène* de l'air.

Toutes ces substances peuvent également être groupées dans l'ordre suivant :

- |   |                      |
|---|----------------------|
| 1° Oxygène.   | 7° Potasse.          |
| 2° Eau.   | 8° Magnésie.         |
| 3° Sucre.   | 9° Acide sulfurique. |
| 4° Acide tartrique.                                 | 10° Oxyde de zinc.   |
| 5° Composés azotés : acide azotique,<br>ammoniaque. | 11° Oxyde de fer.    |
| 6° Acide phosphorique.                              | 12° Silice.          |

Ce sont ces douze éléments que je supprimerai tour à tour pour déterminer l'influence favorable de chacun d'eux sur la végétation de l'*Aspergillus*.

*Intervention nécessaire de l'oxygène, de l'eau, du sucre, de l'acide tartrique dans la végétation de l'Aspergillus.* — Je ne reviendrai pas sur l'efficacité et sur le rôle de l'*oxygène*, que j'ai indiqués précédemment (page 126), sans rien ajouter d'ailleurs à ce qui était connu auparavant sur ce point.

Il est à peine besoin de dire que l'*Aspergillus*, comme tous les végétaux, ne peut pas se développer dans un milieu privé d'eau : le rôle principal de cet oxyde est de dissoudre les autres substances qui interviennent dans la formation de cette plante.

Le rôle du *sucre* dans le développement des végétaux inférieurs a été mis en pleine lumière par les études de M. Pasteur (page 91 et suivantes) ; je ne citerai ici qu'un exemple numérique pour donner la mesure des effets de ce composé ternaire sur la végétation de l'*Aspergillus*.

Le 24 décembre 1867, j'ai mis à l'étuve deux essais contenant les substances suivantes :

N° 1. Eau.....	2750	Carbonate de potasse.....	0,6	
Acide tartrique...	3	Carbonate de magnésie.....	0,5	
Nitrate d'ammou..	3,5	Citrate de fer.....	0,1	
Phosphate d'amm.	0,6	Sulfate de zinc.....	0,1	Sucre. 80
Sulfate d'amm....	0,3			
		Spores d' <i>Aspergillus</i> .		

N° 2. Idem..... Sucre... 0

	28 décembre, 1 <sup>re</sup> récolte.	4 janvier, 2 <sup>e</sup> récolte.	8 janvier, 3 <sup>e</sup> récolte.
	gr.	gr.	gr.
N° 1.....	10,2	5,0	2,5
2.....	0,27	0,0	0,0
Récoltes totales.		Rapport des deux récoltes totales.	
N° 1.....	17,7	N° 1	17,7
2.....	0,27	N° 2	$\frac{17,7}{0,27} = 65$

L'effet produit par l'addition du sucre à l'élément azoté et aux matières minérales s'est donc traduit ici par un accroissement du poids de la récolte dans le rapport de 65 à 1.

Remarquons encore que 80 grammes de sucre introduits dans le n° 1 ont fourni un excédant de récolte égal à 17<sup>gr</sup>,43 seulement, c'est-à-dire très-inférieur au poids du sucre ajouté, car le rapport du poids du sucre à l'excédant de récolte est :

$$\frac{80}{17,43} = 4,6.$$

Le sucre fournit au végétal le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, c'est-à-dire la presque totalité de sa substance : avec l'oxygène de l'air il alimente la respiration ; le sucre, l'eau et l'oxygène donnent peut-être naissance encore à des produits secondaires. Mais je n'ai pas recherché l'équation de leurs réactions multiples, qu'il appartient à l'analyse de déterminer.

L'acide tartrique joue, dans la végétation de l'*Aspergillus* et en général des Mucédinées, un rôle remarquable : vient-on à le supprimer, le liquide est envahi par des infusoires qui entravent le développement de la Mucédinée, phénomène qui se manifeste d'ailleurs dans tous les liquides neutres ou légèrement alcalins.

Ce n'est donc pas à la *nature de ses éléments*, mais bien à sa *propriété acide* que l'acide tartrique doit son efficacité; car l'alcool, le sucre, etc., qui contiennent les mêmes éléments ne peuvent le remplacer, et au contraire la plupart des acides organiques, certains acides minéraux même, tels que l'acide sulfurique en petite quantité, peuvent lui être substitués; mais je n'insisterai pas davantage sur un ordre de faits parfaitement connus depuis les travaux de M. Pasteur. (Voyez page 75.)

*Influence de l'élément azoté sur le développement de l'Aspergillus.* — L'azote, par son importance au point de vue de la végétation, se place immédiatement après le carbone, l'hydrogène et l'oxygène. Aussi je vais étudier expérimentalement les effets des *principaux composés azotés* sur le développement de l'*Aspergillus*.

*Première expérience.*

N° 1. Eau, 3000 ; sucre, 75 ; acide tartrique, 2,5 ; phosphate de potasse, 0,8 ; sulfate de potasse, 0,2 ; magnésic, 0,2 ; cendres, 0,2. Spores d' <i>Aspergillus</i> .	Nitrate d'ammoniaque... 3,0	gr
N° 2. Idem.....	Nitrate d'ammoniaque... 0,0	gr

On a mis les deux essais à l'étuve le 13 février 1863.

	Récoltes successives.		
	19 février. 1 <sup>re</sup> récolte.	26 février. 2 <sup>e</sup> récolte.	4 mars. 3 <sup>e</sup> récolte.
N° 1.....	gr 6,0	gr 7,50	gr 2,0
2.....	0,0	0,15	0,5

	Sommes des récoltes.		
	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N° 1.....	gr 6,0	gr 13,50	gr 15,50
2.....	0,0	0,15	0,65

	Rapports des sommes des récoltes du n° 1 à celles du n° 2.		
	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N° 1		13,5	15,5
N° 2	»	0,15 = 90	0,65 = 24

*Deuxième expérience.*

**Le 4 janvier 1869, les deux essais suivants ont été mis à l'étuve :**

- |       |   |                       |                    |
|-------|---|-----------------------|--------------------|
| N° 1  | Eau, 1000; sucre, 50; acide tartrique, 2; phosphate de potasse, 0,6; sulfate de magnésic, 0,3; sulfate de zinc, 0,048; sulfate de fer, 0,048; silicate de potasse, 0,048. Spores. | Nitrate d'ammoniaque. | 3,0 <sup>gr.</sup> |
| N° 2. | Idem.....   | Nitrate d'ammoniaque. | 0,0                |

**Récoltes successives.**

	7 janvier. 1 <sup>re</sup> récolte.	10 janvier. 2 <sup>e</sup> récolte.
N°s 1. ....	5 <sup>gr.</sup> 14,8	5 <sup>gr.</sup> 3,5
2. ....	0,4	0,02

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	Récolte totale.
N°s 1. ....	5 <sup>gr.</sup> 14,8	5 <sup>gr.</sup> 18,3
2. ....	0,4	0,12

**Rapports**

des sommes correspondantes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	Récolte totale.
N° 1	14,8	18,3
N° 2	0,4	0,12
	= 148	= 153

Le rapport des récoltes avec et sans nitrate d'ammoniaque a varié de 24 : 1 à 153 : 1. Ces deux premières expériences mettent donc hors de doute l'efficacité du *nitrate d'ammoniaque*. J'ai essayé de le remplacer par le *nitrate de potasse* et le *tartrate d'ammoniaque*.

*Troisième expérience, commencée le 5 juillet 1863.*

- |        |   |                        |                    |
|--------|---|------------------------|--------------------|
| N°s 1. | Eau, 3000; sucre, 80; acide tartrique; matières minérales. Spores d' <i>Aspergillus</i> . | Nitrate d'ammoniaque.  | 2,0 <sup>gr.</sup> |
| 2.     | Idem.....   | Nitrate de potasse.... | 5,0                |
| 3.     | Idem....  | Tartrate d'ammoniaq..  | 4,5                |
| 4.     | Idem.....   | Pas d'azote.           |                    |

**Récoltes successives.**

	8 juillet. 1 <sup>re</sup> récolte.	11 juillet. 2 <sup>e</sup> récolte.	14 juillet. 3 <sup>e</sup> récolte.	18 juillet. 4 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1 . . . .	9,0	4,3	1,5	1,3
2 . . . .	4,5	4,9	4,2	2,4
3 . . . .	5,5	6,4	5,5	3,6
4 . . . .	Poids inappréciable.	»	»	0,8

	Somme des quatre récoltes successives.	Rapports des récoltes totales à celle du n <sup>o</sup> 4.
N <sup>os</sup> 1 . . . . .	16,1	$\frac{16,1}{0,8} = 20$
2 . . . . .	16,0	$\frac{16,0}{0,8} = 20$
3 . . . . .	21,0	$\frac{21,0}{0,8} = 26$
4 . . . . .	0,8	$\frac{0,8}{0,8} = 1$

Cette expérience prouve que le nitrate d'ammoniaque peut être remplacé par le nitrate de potasse ou le tartrate d'ammoniaque ; car les rapports 20, 20, 26, qui mesurent les effets de ces sels à égales quantités d'azote, sont très-rapprochés.

*Quatrième expérience (14 mai 1863).*

N <sup>os</sup> 1. Eau, 3000 ; sucre, 65 ; acide tartrique ; matières minérales. Spores d' <i>Aspergillus</i> .	Nitrate de potasse . . .	4,5	gr
2. Idem. . . . .	Nitrate de potasse . . .	0,0	
	20 mai. 1 <sup>re</sup> récolte.	26 mai. 2 <sup>e</sup> récolte.	4 juin. 3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1 . . . .	3,8	3,5	2,7
2 . . . .	0,2	»	0,1
	Récoltes totales.	10,0	0,3
	Rapport des récoltes totales.	$\frac{10,0}{0,3} = 33$	

Cette expérience confirme la précédente en ce qui concerne les effets du nitrate de potasse sur l'*Aspergillus*.

*Cinquième expérience (28 juin 1868).*

N <sup>os</sup> 1. Eau, 1000 ; sucre 60 ; acide tartrique ; ma- tières minérales. Spores d' <i>Aspergillus</i> .	Nitrate d'ammoniaque.	2,0	gr
2. Idem. . . . .	Tartrate d'ammoniaque . . .	4,5	

	1 <sup>er</sup> juillet. 1 <sup>re</sup> récolte.	4 juillet. 2 <sup>e</sup> récolte.	Récolte totale.
N <sup>os</sup> 1 . . . . .	18,2	1,8	20,0
2 . . . . .	18,5	3,6	22,1

Rapports des récoltes correspondantes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	2 <sup>e</sup> récolte.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1	18,2		22,1
N <sup>o</sup> 2	18,5	1,02	20,0
.....		»	= 1,10

Le tartrate d'ammoniaque est donc aussi actif sur la végétation que le nitrate d'ammoniaque ; je remarque même, sans attacher à ce fait plus d'importance qu'il ne mérite, que le tartrate d'ammoniaque s'est montré un peu plus efficace que les nitrates, à égalité d'azote.

En résumé, l'acide nitrique et l'ammoniaque, à l'état de sels, produisent sur la végétation des effets analogues ; ce résultat ne peut être attribué qu'à la seule propriété commune à ces deux composés si différents, je veux dire à l'azote qu'ils renferment.

La deuxième expérience conduit à une remarque intéressante : en introduisant, dans l'essai n<sup>o</sup> 1, 1<sup>er</sup>,05 d'azote à l'état d'ammoniaque, j'ai obtenu un excédant de récolte égal à 18<sup>er</sup>,3 — 0<sup>er</sup>,12 = 18<sup>er</sup>,18. Le rapport de l'azote à l'excédant de récolte est donc  $\frac{1,05}{18,18} = \frac{1}{17}$  : c'est-à-dire que le poids de l'azote est petit relativement au poids de matière organisée dont il provoque la formation.

J'ajouterai encore, sous toutes réserves, que le nitrite de potasse et le cyanure de potassium ne m'ont point paru par eux-mêmes favoriser le développement de l'*Aspergillus*.

Laissant de côté les faits particuliers, je formulerai par les trois propositions suivantes mes conclusions générales relatives à l'action physiologique de l'élément azoté :

1<sup>o</sup> M. Pasteur a prouvé l'utilité de l'ammoniaque dans la végétation des Mucédinées, lorsqu'on l'ajoute à un milieu artificiel formé d'eau, de sucre, d'acide tartrique et de matières minérales.

2<sup>o</sup> J'ai vérifié sur l'*Aspergillus* ce résultat fondamental, en l'amplifiant, et en le mesurant par le rapport numérique des poids de récoltes obtenues avec et sans ammoniaque, rapport qui s'est élevé jusqu'à 153 : 1.

3° J'ai établi que l'*ammoniaque* peut être remplacée par l'*acide nitrique*; d'où il résulte que c'est à leur azote que ces deux composés si différents doivent leur efficacité.

*Influence de l'acide phosphorique, de la potasse, de la magnésie, de l'acide sulfurique sur le développement de l'Aspergillus.*  
— Les effets apparents de l'*acide phosphorique*, de la *potasse*, de la *magnésie*, de l'*acide sulfurique*, sur le développement de l'*Aspergillus*, sont assez comparables entre eux; aussi ai-je cru devoir grouper ensemble les expériences destinées à faire ressortir l'efficacité de chacun de ces composés sur la végétation.

*Première expérience.*

Le 12 mars 1863, on a mis à l'étuve les essais suivants :

N° 1. Eau . . . . .	4000	<i>Phosphate d'ammoniaque</i> . . . . .	1,05
Sucre . . . . .	70	<i>Carbonate de potasse</i> . . . . .	0,316
Acide tartrique . . . . .	2	<i>Magnésie</i> . . . . .	0,132
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	3,5	<i>Sulfate d'ammoniaque</i> . . . . .	0,200
Matières min. complexes . . . . .	0,2		

*Spores d'Aspergillus.*

- N° 2. Comme le n° 1, moins le *phosphate d'ammoniaque*.
- 3. Comme le n° 1, moins le *carbonate de potasse*.
- 4. Comme le n° 1, moins la *magnésie*.
- 5. Comme le n° 1, moins le *sulfate d'ammoniaque*.

Récolte du 30 avril.

N° 1 . . . . .	8,15
2 . . . . .	0,2
3 . . . . .	0,6
4 . . . . .	0,7
5 . . . . .	0,8

Rapports du poids du n° 1 aux poids :

$$\begin{aligned} \text{du n° 2... } & \frac{8,15}{0,20} = 40,7 \\ \text{du n° 3... } & \frac{8,15}{0,60} = 13,6 \\ \text{du n° 4... } & \frac{8,15}{0,70} = 11,6 \\ \text{du n° 5... } & \frac{8,15}{0,80} = 10,2 \end{aligned}$$

*Deuxième expérience (14 juin 1863).*

N <sup>o</sup> 1. Eau.....	4000	<i>Phosphate d'ammoniaque.....</i>	0,59
Sucre.....	100	<i>Carbonate de potasse.....</i>	0,54
Acide tartrique.....	2	<i>Magnésie.....</i>	0,11
Nitrate d'ammoniaque..	4	<i>Sulfate d'ammoniaque.....</i>	0,21
Matières min. complexes.	0,20		

Spores d'*Aspergillus*.

N<sup>os</sup> 2. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *phosphate d'ammoniaque*.

3. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *carbonate de potasse*.

4. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins la *magnésie*.

5. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *sulfate d'ammoniaque*.

Récolte le 23 juin.

N <sup>os</sup> 1.....	gr.
2.....	5,2
3.....	0,1
4.....	0,4
5.....	0,3
	0,5

Rapports du poids du n<sup>o</sup> 1 aux poids :

$$\text{du n}^{\circ} 2... \frac{5,2}{0,1} = 52,0$$

$$\text{du n}^{\circ} 3... \frac{5,2}{0,4} = 13,0$$

$$\text{du n}^{\circ} 4... \frac{5,2}{0,3} = 17,0$$

$$\text{du n}^{\circ} 5... \frac{5,2}{0,5} = 10,4$$

*Troisième expérience.*

N <sup>o</sup> 1. Eau.....	3000	<i>Phosphate d'ammoniaque.....</i>	0,4
Sucre.....	65	<i>Carbonate de potasse.....</i>	0,4
Acide tartrique.....	2	<i>Magnésie.....</i>	0,2
Nitrate d'ammoniaque..	2,5	<i>Sulfate d'ammoniaque.....</i>	0,2
Matières min. complexes.	0,2		

Spores d'*Aspergillus*.

N<sup>os</sup> 2. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *phosphate d'ammoniaque*.

3. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *carbonate de potasse*.

4. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins la *magnésie*.

5. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *sulfate d'ammoniaque*.

On a mis ces essais à l'étuve le 22 mars 1864.

**Récoltes successives.**

	31 mars. 1 <sup>re</sup> récolte.	20 avril. 2 <sup>e</sup> récolte.	27 avril. 3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1. . . .	gr. 5,0	gr. 2,3	gr. 10,3
2. . . .	non récolté	0,3	0,4
3. . . .	id.	0,4	0,3
4. . . .	id.	0,5	0,5
5. . . .	2,6	1,0	3,7

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>os</sup> 1. . . .	gr. 5,0	gr. 7,3	gr. 17,6
2. . . .	non récolté	0,3	0,4
3. . . .	id.	0,4	0,7
4. . . .	id.	0,5	1,0
5. . . .	2,6	3,6	7,3

**Rapports des sommes**

du n<sup>o</sup> 1 aux autres sommes, savoir :

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1			
$\frac{N^o 2}{N^o 1}$ . . . .	»	24	44
$\frac{N^o 3}{N^o 1}$ . . . .	»	18	25
$\frac{N^o 4}{N^o 1}$ . . . .	»	14,6	17,6
$\frac{N^o 5}{N^o 1}$ . . . .	2	2	2,4

Les expériences qui précèdent nous ont conduits à des rapports de récoltes tellement supérieurs à l'unité, qu'elles ne laissent aucun doute sur l'utilité physiologique du phosphate d'ammoniaque, du carbonate de potasse, de la magnésie, du sulfate d'ammoniaque. Mais peut-être auraient-elles pu conduire à des nombres encore plus concluants, si on les avait exécutées avec toute la perfection que comporte la méthode; peut-être aussi les effets du *phosphate d'ammoniaque* et du *sulfate d'ammoniaque* pouvaient-ils être attribués, en partie au moins, à l'excès d'ammoniaque que ces corps ont introduit dans les liquides. C'est pour répondre

à ces objections que j'ai répété, avec plus de rigueur, les premières expériences :

*Quatrième expérience.*

N <sup>o</sup> 1. Eau . . . . .	1000	<i>Phosphate d'ammoniaque</i> . . . . .	0,48
Sucre . . . . .	50	<i>Carbonate de potasse</i> . . . . .	0,48
Acide tartrique . . . . .	2	<i>Carbonate de magnésie</i> . . . . .	0,32
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	2,9	<i>Sulfate d'ammoniaque</i> . . . . .	0,20
Carbonate de zinc . . . . .	0,048		
Citrate de fer . . . . .	0,048		
Silicate de potasse . . . . .	0,048		

*Spores d'Aspergillus.*

- N<sup>os</sup> 2. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *phosphate d'ammoniaque*, remplacé par une quantité équivalente de *tartrate d'ammoniaque*.  
 3. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *carbonate de potasse*.  
 4. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *carbonate de magnésie*.  
 5. Comme le n<sup>o</sup> 1, moins le *sulfate d'ammoniaque*, remplacé par une quantité équivalente de *tartrate d'ammoniaque*.

On a mis ces essais à l'étuve le 4 janvier 1869.

	1 <sup>re</sup> récolte. 7 janvier.	2 <sup>e</sup> récolte. 10 janvier.	Récolte totale.
	gr.	gr.	gr.
N <sup>o</sup> 1 . . . . .	14,0	4,20	18,20
2 . . . . .	»	0,10	0,10
3 . . . . .	0,8	0,05	0,85
4 . . . . .	»	0,20	0,20
5 . . . . .	1,3	0,30	1,60

Rapports du poids de la récolte totale du n<sup>o</sup> 1 aux poids des autres récoltes; savoir :

$$\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 2} \dots \frac{18,2}{0,10} = 182,0, \text{ effet de l'acide phosphorique.}$$

$$\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 3} \dots \frac{18,2}{0,85} = 21,0, \text{ effet de la potasse.}$$

$$\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 4} \dots \frac{18,2}{0,20} = 91,0, \text{ effet de la magnésie.}$$

$$\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 5} \dots \frac{18,2}{1,68} = 11,4, \text{ effet de l'acide sulfurique.}$$

Cette dernière expérience prouve évidemment l'efficacité de l'*acide phosphorique*, de la *potasse*, de la *magnésie*, de l'*acide sulfurique* à l'état de sels, en même temps qu'elle en donne la mesure numérique.

A cause de la facilité avec laquelle les acides et les bases en

dissolution se combinent entre eux ou se séparent les uns des autres, on peut admettre comme évident que l'action de l'acide sulfurique, par exemple, sur la végétation, est indépendante de la base avec laquelle il est combiné; en sorte que tous les sulfates dont la base ne nuit pas par elle-même au développement de l'*Aspergillus*, le favoriseraient à l'égal du sulfate d'ammoniaque. Une remarque analogue s'applique à l'acide phosphorique, à la potasse, à la magnésie. Au reste, j'ai vérifié cette hypothèse en mesurant les effets physiologiques de l'acide phosphorique, de l'acide sulfurique, de la potasse, de la magnésie, engagés dans des combinaisons salines différentes, et les résultats se sont montrés conformes à mes prévisions; je me bornerai à rapporter une seule expérience de ce genre relative à l'acide sulfurique :

*Cinquième expérience (17 mai 1864).*

N° 1 . Eau.....	3000	Magnésie.....	0,2
Sucre.....	65	Citrate de fer.....	0,1
Acide tartrique.....	4,5	Carbonate de manganèse.....	0,1
Nitrate d'ammoniaque..	3	Carbonate de soude.....	0,1
Phosphate d'ammoniaq.	0,5	Matières minérales complexes....	0,1
Carbonate de potasse...	0,5	<i>Sulfate d'ammoniaque.....</i>	<i>0,2</i>

Spores d'*Aspergillus*.

N°s 2. Comme le n° 1. *Sulfate d'ammoniaque* remplacé par le *sulfate de potasse*.

3. Comme le n° 1. Pas de *sulfate*.

Récoltes successives.

	20 mai. 1 <sup>re</sup> récolte.	25 mai. 2 <sup>e</sup> récolte.	4 juin. 3 <sup>e</sup> récolte.
N°s 1.....	gr. 3,0	gr. 7,8	gr. 3,5
2.....	2,5	7,3	4,3
3.....	0,2	0,5	0,9

Sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N°s 1.....	gr. 3,0	gr. 10,8	gr. 14,3
2.....	2,5	9,8	14,1
3.....	0,2	0,7	1,6

**Rapports des. sommes correspondantes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1 .....	$\frac{3,0}{2,5} = 1,2$	$\frac{10,8}{9,8} = 1,1$	$\frac{14,3}{14,1} = 1,01$
N <sup>o</sup> 2 .....	$\frac{3,0}{0,2} = 15,2$	$\frac{10,8}{0,7} = 15,4$	$\frac{14,3}{1,6} = 8,94$

A l'inspection de ces rapports numériques, on voit immédiatement que les effets produits par le *sulfate d'ammoniaque* et le *sulfate de potasse* sont presque identiques, indépendants par conséquent de la nature de la base.

Cette influence de l'acide phosphorique, de l'acide sulfurique, de la potasse, de la magnésie, sur la végétation, ne peut guère être attribuée qu'aux radicaux de ces oxydes : dès lors, si nous cherchons le rapport de l'excédant de récolte déterminé par la présence de chacun de ces radicaux dans un milieu artificiel, au poids du radical lui-même, voici ce que nous trouverons, d'après la quatrième expérience :

Poids du radical.	Excédant de récolte.	Rapport de l'excédant de récolte au poids du radical
Phosphore..... 0,115 <sup>gr.</sup>	18,2 — 0,10 = 18,1 <sup>gr.</sup>	$\frac{18,100}{0,115} = 157$
Potassium. .... 0,271	18,2 — 0,85 = 17,35	$\frac{17,350}{0,271} = 64$
Magnésium. .... 0,091	18,2 — 0,20 = 18,00	$\frac{18,000}{0,091} = 200$
Soufre. .... 0,048	18,2 — 1,60 = 16,60	$\frac{16,600}{0,048} = 346$

Il est, à mon avis, très-remarquable qu'un certain poids de chacun de ces corps simples puisse déterminer la formation d'un poids de matière organisée aussi considérable par rapport au premier ! Je dirai d'ailleurs, une fois pour toutes, que ces nombres, comme la plupart des nombres de ce mémoire, ne doivent pas être pris dans un sens trop absolu : ils servent à donner des idées nettes et vraies sur les variations des éléments des phénomènes, sans toutefois les mesurer rigoureusement.

En résumé, voici les résultats généraux qui me paraissent

définitivement acquis par les expériences que je viens de rapporter :

1° M. Pasteur avait constaté qu'une petite quantité de cendres minérales formées en grande partie d'*acide phosphorique*, de *potasse*, de *magnésie*, exerce une influence favorable sur le développement des Mucédinées, en présence du sucre, de l'*acide tartrique* et d'un élément azoté. (Voyez page 108 et page 92.)

2° J'ai démontré que cette influence est due principalement au concours simultané de l'*acide phosphorique*, de la *potasse*, de la *magnésie*, de l'*acide sulfurique*; car si l'on supprime, du milieu type indiqué à la page 138, un seul de ces oxydes, quel qu'il soit, on n'obtient plus, à la place d'une abondante récolte que fournirait le milieu complet, qu'une chétive végétation.

3° J'ai mesuré les effets de ces éléments par le rapport des poids de récoltes obtenus avec et sans le concours de chacun d'eux; voici les valeurs extrêmes de ces rapports :

	Minima.	Maxima.
Pour l' <i>acide phosphorique</i> .	24,0	182,0
Pour la <i>potasse</i> .....	13,0	25,0
Pour la <i>magnésie</i> .....	11,6	91,0
Pour l' <i>acide sulfurique</i> ....	2,0	15,4

4° Les poids de *phosphore*, de *potassium*, de *magnésium*, de *soufre*, auxquels j'attribue ces effets, sont extrêmement faibles par rapport au poids de matière organisée produite par leur intervention :

1 gramme de <i>phosphore</i> peut développer.....	157 grammes de Mucédinée.
1 id. de <i>potassium</i> .....	64 —
1 id. de <i>magnésium</i> .....	200 —
1 id. de <i>soufre</i> .....	346 —

Il m'a paru inutile d'insister longtemps sur les résultats qui précèdent, tant ils se dégagent avec netteté des expériences. Mais à mesure que les faits deviennent plus inattendus, moins facilement saisissables, l'expérimentateur doit multiplier les preuves, devenir plus sévère dans les déductions. Aussi ai-je cru devoir coucentrer tous mes efforts sur les faits que je vais exposer,

parce que par leur nature même ils paraissaient devoir soulever plus d'objections.

*Il existe des oxydes minéraux qui, ajoutés aux éléments dont l'utilité pour la végétation a été constatée précédemment, augmentent notablement le poids des récoltes.* — Nous avons jusqu'ici constaté l'influence d'un certain nombre d'éléments sur la végétation de l'*Aspergillus*, savoir :

- L'oxygène (de l'air).
- L'eau.
- Le sucre
- L'acide tartrique.
- L'élément azoté (acide nitrique ou ammoniaque).
- L'acide phosphorique.
- L'acide sulfurique.
- La potasse.
- La magnésie.

Un milieu formé de la réunion de ces éléments peut fournir une abondante récolte d'*Aspergillus*, si l'on n'en éloigne pas avec soin les substances étrangères qui peuvent s'y mêler naturellement. Ce cas se présentera si les éléments que je viens de nommer ont été mal purifiés, si les vases qui contiennent la dissolution de ces éléments lui cède des traces de leur substance (telles sont, par exemple, les poteries grossières, etc., etc.). C'est précisément dans de semblables conditions que furent réalisées mes premières expériences sur la végétation de l'*Aspergillus*, par suite de circonstances qu'il est inutile de rappeler ici. Plus tard, lorsque j'éloignai des milieux artificiels les causes capables d'en altérer la pureté, je vis aussitôt le poids des récoltes s'abaisser singulièrement, et l'insuffisance des éléments qui seuls jusque-là avaient fixé mon attention commença à se révéler. Je vais préciser ces faits par un exemple :

En 1862, un milieu artificiel formé des substances que je viens d'énumérer a fourni une récolte totale s'élevant à 18<sup>gr</sup>,04 à l'état sec pour 80 grammes de sucre. En 1864, un milieu formé des mêmes éléments, presque dans les mêmes proportions, a produit 6 grammes de récolte totale pour 100 grammes de sucre.

Pourquoi donc le premier essai a-t-il donné une récolte trois fois plus forte que le second? C'est que, dans le premier cas, des substances étrangères s'étaient glissées parmi les éléments du milieu artificiel, cause d'erreur qui avait été évitée dans le second cas.

Ces faits parlent d'eux-mêmes : il est clair qu'il existe certaines substances qui, ajoutées au milieu artificiel employé dans la deuxième expérience, élèveront sûrement la récolte de 6 à 18 grammes, et lorsque ce résultat sera atteint, l'influence de nouveaux agents de fertilisation sera démontrée. Or, si nous parvenons à réaliser ce progrès, nous le devons à une purification plus complète du milieu au sein duquel s'élabore la Mucédinée. On comprend dès lors toute l'importance de certaines précautions que j'ai recommandées dans l'exposé de la méthode (pages 114 et 115).

Mais avant de rechercher quels sont ces nouveaux éléments utiles à la végétation de l'*Aspergillus*, il importe de ne laisser aucun doute sur l'exactitude de cette proposition :

*Outre l'oxygène, l'eau, le sucre, l'acide tartrique, la matière azotée, l'acide phosphorique, la potasse, la magnésie, l'acide sulfurique, il existe d'autres éléments qui, ajoutés au milieu formé par les premiers, augmentent notablement le poids des récoltes.*

Tel est l'objet des expériences qui suivent :

*Première expérience.*

N° 1. Eau . . . . .	3000	Phosphate d'ammoniaque . . . . .	0,5
Sucre . . . . .	80	Carbonate de potasse . . . . .	0,5
Acide tartrique . . . . .	3	Carbonate de magnésie . . . . .	0,3
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	3	Sulfate d'ammoniaque . . . . .	0,2

*Spores d'Aspergillus.*

N° 2. Comme le n° 1, et en outre :

Terre cuite pulvérisée . . . . .	gr. 2,0
Carbonate de manganèse . . . . .	0,1
Carbonate de soude . . . . .	0,1
Carbonate de chaux . . . . .	0,1
Citrate de fer . . . . .	0,1

N° 3. Comme le n° 2, et en outre 2 grammes de porcelaine pulvérisée.

Ces essais ont été mis à l'étuve le 10 octobre 1864.

**Récoltes successives.**

	14 octobre, 1 <sup>re</sup> récolte.	19 octobre, 2 <sup>e</sup> récolte.	23 octobre, 3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1....	gr 3,0	gr 2,4	gr 0,6
2....	8,7	6,3	3,1
3....	10,0	6,8	2,0

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>os</sup> 1....	3,0	5,4	6,0
2....	8,7	15,0	18,1
3....	10,0	16,8	18,8

**Rapports des récoltes correspondantes, savoir :**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 2	8,7	15,0	18,1
$\frac{N^o 4}{N^o 1} \dots\dots$	$\frac{3,0}{8,7} = 2,9$	$\frac{5,4}{15,0} = 2,8$	$\frac{6,0}{18,1} = 3,0$
N <sup>o</sup> 3	10	16,8	18,8
$\frac{N^o 1}{N^o 1} \dots\dots$	$\frac{10}{3} = 3,3$	$\frac{16,8}{5,4} = 3,1$	$\frac{18,8}{6,0} = 3,1$

*Deuxième expérience (16 juin 1864).*

N <sup>o</sup> 1. Eau.....	3000	Phosphate d'ammoniaque.....	0,5
Sucre.. .....	80	Carbonate de potasse.....	0,5
Acide tartrique.....	1,8	Magnésie.....	0,2
Nitrate d'ammoniaque..	3	Sulfate d'ammoniaque.....	0,2

**Spores d'*Aspergillus*.**

N <sup>o</sup> 2. Comme le n <sup>o</sup> 1, et en outre :		gr
Terre cuite pulvérisée.....		1,0
Porcelaine pulvérisée.....		1,0
Carbonate de soude.....		0,1
Carbonate de manganèse.....		0,1
Carbonate de chaux.....		0,1
Citrate de fer.....		0,1

N<sup>o</sup> 3. Comme le n<sup>o</sup> 2, + cendres de bois, 0,5.

**Récoltes successives.**

	19 juin, 1 <sup>re</sup> récolte.	22 juin, 2 <sup>e</sup> récolte.	25 juin, 3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1....	gr 1,7	gr 1,7	gr 0,6
2....	7,8	6,7	4,5
3....	0,7	7,7	5,0

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>os</sup> 1. . . . .	1,7	3,4	4,0
2. . . . .	7,8	14,5	19,0
3. . . . .	0,7	8,4	13,4

**Rapports des récoltes, savoir :**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 2	7,8	14,5	19
N <sup>o</sup> 1 . . . . .	$\frac{7,8}{1,7} = 4,5$	$\frac{14,5}{3,4} = 4,3$	$\frac{19}{4} = 4,7$
N <sup>o</sup> 3	0,7	8,4	13,4
N <sup>o</sup> 1 . . . . .	$\frac{0,7}{1,7} = 0,41$	$\frac{8,4}{3,4} = 2,4$	$\frac{13,4}{4,0} = 3,4$

La première récolte du n<sup>o</sup> 3 (0<sup>gr</sup>,7) est évidemment anormale : or, des infusoires ayant pris naissance dans cet essai à cause de la diminution d'acidité produite par les 0<sup>gr</sup>,5 de cendres de bois (page 75), la végétation de la Mucédinée a été tout d'abord ralentie ; mais bientôt elle a repris le dessus, parce que ces infusoires ont développé des acides, et dès la deuxième récolte l'anomalie a disparu.

*Troisième expérience (17 juillet 1866).*

N <sup>o</sup> 1. Eau. . . . .	3000	Phosphate d'ammoniaque. . . . .	0,5
Sucré. . . . .	80	Carbonate de potasse. . . . .	0,5
Acide tartrique. . . . .	3,5	Magnésie. . . . .	0,2
Nitrate d'ammoniaque. . . . .	3	Sulfate d'ammoniaque. . . . .	0,2

*Spores d'Aspergillus.*

N <sup>o</sup> 2. Comme le n <sup>o</sup> 1, et en outre :	gr.
Carbonate de manganèse. . . . .	0,1
Carbonate de chaux. . . . .	0,1
Sulfate de fer. . . . .	0,1
Sulfate de zinc. . . . .	0,1
Carbonate de soude. . . . .	0,1
Silicate de potasse. . . . .	0,1

N<sup>o</sup> 3. Comme le n<sup>o</sup> 2 ; + terre cuite, 1 gramme ; cendres de bois, 1 gramme.

**Récoltes successives.**

	20 juillet. 1 <sup>re</sup> récolte.	23 juillet. 2 <sup>e</sup> récolte.	26 juillet. 3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1. . . . .	gr. 4,8	gr. 4,3	gr. 4,0
2. . . . .	7,8	6,0	4,6
3. . . . .	9,0	6,8	5,7

Sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1. . . . .	4,8	3,1	4,1
2. . . . .	7,8	13,8	18,4
3. . . . .	9,0	15,8	21,5

Rapports des récoltes correspondantes :

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 2. . . . .	$\frac{7,8}{4,8} = 4,3$	$\frac{13,8}{3,1} = 4,4$	$\frac{18,4}{4,1} = 4,5$
N <sup>o</sup> 1. . . . .	$\frac{9,0}{4,8} = 5,0$	$\frac{15,8}{3,1} = 5,1$	$\frac{21,5}{4,1} = 5,2$

1° Ces expériences s'accordent à démontrer que l'addition de *certaines substances* aux éléments reconnus jusqu'ici utiles à la végétation de l'*Aspergillus*, augmente le poids des récoltes suivant des rapports qui varient entre 3 : 1 et 5 : 1.

2° Ces nouvelles substances favorables à la végétation, doivent être recherchées parmi les sels minéraux, puisque les matières plus ou moins complexes dont on vient de reconnaître l'efficacité ne sont en réalité que des mélanges de sels minéraux.

3° Il paraît même certain, d'après les résultats du n° 2 de la troisième expérience, que les plus essentiels de ces sels minéraux font partie du mélange suivant :

- Carbonate de manganèse,
- Carbonate de chaux,
- Carbonate de soude,
- Sulfate de fer,
- Sulfate de zinc,
- Silicate de potasse.

Toutefois les matières complexes, que j'ai ajoutées dans certains essais, ont en réalité apporté avec elles de l'acide phosphorique, de la potasse, de la magnésic, de l'acide sulfurique : n'est-ce pas à cette augmentation d'éléments reconnus utiles qu'il faudrait attribuer une partie des effets observés ? Les expériences suivantes répondent à cette objection :

*Quatrième expérience.*

N° 1. Comme le N° 1 de la troisième expérience, et en outre :

Phosphate d'ammoniaque..	0,3	Carbonate de magnésie.....	0,3
Carbonate de potasse.....	0,3	Sulfate d'ammoniaque.....	0,2

N° 2. Comme le N° 1 de la troisième expérience, et en outre :

Terre cuite pilée.....	1,0	Carbonate de chaux.....	0,1
Cendres de bois.....	1,0	Carbonate de soude.....	0,1
Sulfate de fer.....	0,1	Carbonate de zinc.....	0,1
Carbonate de manganèse..	0,1		

On a porté ces essais à l'étuve le 26 juin 1866.

Récoltes successives.

	20 juin. 1 <sup>re</sup> récolte.	2 juillet. 2 <sup>e</sup> récolte.	5 juillet. 3 <sup>e</sup> récolte.	8 juillet. 4 <sup>e</sup> récolte.
	gr.	gr.	gr.	gr.
N <sup>os</sup> 1...	2,1	2,1	1,7	1,3
2...	8,0	6,8	5,3	4,0

Sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	1 <sup>re</sup> , 2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>os</sup> 1...	2,1	4,2	5,9	7,2
2...	8,0	14,8	20,1	24,1

Rapports des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	1 <sup>re</sup> , 2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N° 2.	8,0	14,8	20,1	24,1
N° 1.	2,1	4,2	5,9	7,2
	= 3,8	= 3,5	= 3,4	= 3,3

*Cinquième expérience (16 juin 1868).*

N° 1. Eau.....	3000	Phosphate d'ammoniaque.....	0,5
Sucre.....	80	Carbonate de potasse.....	0,5
Acide tartrique.....	3	Carbonate de magnésie.....	0,3
Nitrate d'ammoniaque.	3	Sulfate d'ammoniaque.....	0,2

*Spores d'Aspergillus.*

N° 2. Comme le N° 1, et en outre :

Phosphate d'ammoniaque..	0,17	Carbonate de magnésie.....	0,1
Carbonate de potasse....	0,17	Sulfate d'ammoniaque.....	0,1

N° 3. Comme le N° 1, et en outre :

Terre cuite pulvérisée....	1,0	Carbonate de manganèse.....	0,1
Porcelaine pulvérisée....	1,0	Carbonate de chaux.....	0,1
Carbonate de soude.....	0,1	Sulfate de fer.....	0,1

Récoltes successives.

	19 juin. 1 <sup>re</sup> récolte.	22 juin. 2 <sup>e</sup> récolte.	25 juin. 3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1...	gr. 1,7	gr. 1,7	gr. 0,6
2...	1,8	1,7	0,8
3...	7,8	6,7	4,5

Sommes des récoltes.

N <sup>os</sup>	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
1...	1,7	3,4	4,0
2...	1,8	3,5	4,3
3...	7,8	14,5	19,0

Rapports des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 2.	1,8	3,5	4,3
N <sup>o</sup> 1. ....	$\frac{1,8}{1,7} = 1,1$	$\frac{3,5}{3,4} = 1,03$	$\frac{4,3}{4,0} = 1,1$
N <sup>o</sup> 3.	7,8	14,5	19,0
N <sup>o</sup> 2. ....	$\frac{7,8}{1,8} = 4,3$	$\frac{14,5}{3,5} = 4,1$	$\frac{19,0}{4,3} = 4,4$

Ainsi, d'une part, une augmentation des proportions habituelles d'acide phosphorique, de potasse, de magnésie, d'acide sulfurique, n'a pas sensiblement élevé le poids des récoltes dans le n<sup>o</sup> 2 de la cinquième expérience ; d'autre part, dans la quatrième et la cinquième expérience, ces quatre oxydes ne prédominaient plus dans les vases où l'on a ajouté de la terre cuite pulvérisée, des cendres, etc., etc. ; et pourtant ces matières complexes ont été aussi efficaces que dans les trois premières expériences.

*Influence de l'oxyde de zinc et de l'oxyde de fer sur le développement de l'Aspergillus.* — Il existe donc des oxydes minéraux favorables à la végétation, qui ne sont ni l'acide phosphorique, ni la magnésie, ni la potasse, ni l'acide sulfurique. Quels sont ces oxydes ? L'expérience va nous l'apprendre.

*Première expérience (21 juillet 1867).*

N <sup>o</sup> 1. Eau.....	3000	Phosphate d'ammoniaque.....	0,6
Sucre.....	80	Carbonate de potasse.....	0,6
Acide tartrique.....	3	Carbonate de magnésie.....	0,5
Nitrate d'ammoniaque..	3,5	Sulfate d'ammoniaque.....	0,3

*Sulfate de zinc.. 0,1*

*Sulfate de fer.. 0,1*

*Spores d'Aspergillus.*

2 Comme le N<sup>o</sup> 1, moins le *sulfate de zinc*.

3. Comme le N<sup>o</sup> 1, moins le *sulfate de zinc*.

**Récoltes.**

	24 juillet. 1 <sup>re</sup> récolte.	27 juillet. 2 <sup>e</sup> récolte.	Récolte totale.
	gr.	gr.	gr.
N <sup>o</sup> 1...	9,1	6,2	15,3
2...	2,5	1,7	4,2
3...	2,9	1,0	3,9

**Rapports des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.		Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1.	9,1		15,3
N <sup>o</sup> 2. ....	2,5	= 3,6	4,2
N <sup>o</sup> 1.	9,1		15,3
N <sup>o</sup> 3. ....	2,9	= 3,1	3,9

*Deuxième expérience (14 août 1867).*

N<sup>o</sup> 1. Mêmes substances que dans le N<sup>o</sup> 1 de l'expérience précédente, et en outre :  
0<sup>sr</sup>,1 de silicate de potasse.

2. Comme le N<sup>o</sup> 1, moins le *sulfate de fer*.

**Récoltes.**

	17 août. 1 <sup>re</sup> récolte.	20 août. 2 <sup>e</sup> récolte.	28 août. 3 <sup>e</sup> récolte.
	gr.	gr.	gr.
N <sup>o</sup> 1...	9,7	6,5	2,8
2...	5,0	3,3	1,0

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1...	9,7	16,2	19,0
2...	5,0	8,3	9,3

Rapports des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1. . . . .	$\frac{9,7}{5,0} = 1,8$	$\frac{16,2}{8,3} = 2,0$	$\frac{19,0}{9,3} = 2,0$
N <sup>o</sup> 2. . . . .			

Troisième expérience (23 juin 1867).

- N<sup>os</sup> 1. Identique avec le N<sup>o</sup> 1 des expériences précédentes.
- 2. Comme le N<sup>o</sup> 1, moins le *sulfate de zinc*.
- 3. Comme le N<sup>o</sup> 1, moins le *sulfate de fer*.

Récoltes successives.

	26 juin. 1 <sup>re</sup> récolte.	29 juin. 2 <sup>e</sup> récolte.	2 juillet. 3 <sup>e</sup> récolte.	5 juillet. 4 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1. . . . .	gr. 9,0	gr. 6,2	gr. 3,7	gr. 2,0
2. . . . .	2,6	1,7	1,5	1,0
3. . . . .	3,5	3,8	4,0	1,2

Sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	1 <sup>re</sup> , 2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1. . . . .	9,0	15,2	18,9	20,9
2. . . . .	2,6	4,3	5,8	6,8
3. . . . .	3,5	7,3	11,3	12,5

Rapports des sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	1 <sup>re</sup> , 2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1. . . . .	$\frac{9,0}{2,6} = 3,5$	$\frac{15,2}{4,3} = 3,5$	$\frac{18,9}{5,8} = 3,3$	$\frac{20,9}{6,8} = 3,1$
N <sup>o</sup> 2. . . . .				
N <sup>o</sup> 1. . . . .	$\frac{9,0}{3,5} = 2,6$	$\frac{15,2}{7,3} = 2,1$	$\frac{18,9}{11,3} = 1,7$	$\frac{20,9}{12,5} = 1,7$
N <sup>o</sup> 3. . . . .				

Dans ces trois expériences, les effets du sulfate de zinc sur le poids des récoltes sont mesurés par des rapports compris entre 3,1 et 3,9; et les effets du sulfate de fer par des nombres compris entre 1,7 et 2,6; l'efficacité de ces deux sels est donc incontestable; mais peut-être est-il utile de vérifier qu'elle n'appartient pas à l'*acide sulfurique* que ces sels apportent dans les essais où ils sont introduits :

Quatrième expérience (3 octobre 1868).

N° 1 Eau . . . . .	1000	Carbonate de potasse . . . . .	0,48
Sucre . . . . .	50	Carbonate de magnésie . . . . .	0,32
Acide tartrique . . . . .	2	Sulfate d'ammoniaque . . . . .	0,20
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	2,9	Silicate de potasse . . . . .	0,06
Phosphate d'ammoniaque . . . . .	0,48		
		Sulfate de zinc . . . . .	0,06
		Sulfate de fer . . . . .	0,06
		Spores d' <i>Aspergillus</i> .	

N° 2. Comme le N° 1 ; le sulfate de zinc est remplacé par 0<sup>gr</sup>,06 de sulfate d'ammoniaque.

N° 3. Comme le N° 1 ; le sulfate de fer est remplacé par 0<sup>gr</sup>,06 de sulfate d'ammoniaque.

Récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte. 6 octobre.	2 <sup>e</sup> récolte. 9 octobre.	Récolte totale.
N° 1 . . . . .	15,6	2,8	18,4
2 . . . . .	5,2	0,8	6,0
3 . . . . .	11,0	0,7	11,7

Rapports des récoltes.

N° 1 . . . . .	15,6		Récolte totale.	18,4
N° 2 . . . . .	5,2	= 3,0		6,0 = 3,1
N° 1 . . . . .	15,6			18,4
N° 3 . . . . .	11,0	= 1,4		11,7 = 1,6

Cinquième expérience (31 octobre 1868).

N° 1. Eau . . . . .	1500	Carbonate de magnésie . . . . .	0,40
Sucre . . . . .	70	Sulfate d'ammoniaque . . . . .	0,25
Acide tartrique . . . . .	4	Sulfate de zinc . . . . .	0,07
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	4,04	Silicate de potasse . . . . .	0,7
Phosphate d'ammon . . . . .	0,60	Sulfate de fer . . . . .	0,07
Carbonate de potasse . . . . .	0,60		
		Spores d' <i>Aspergillus</i> .	

N° 2. Comme le N° 1 ; pas de sulfate de fer.

N° 3. Comme le N° 1 ; le sulfate de fer remplacé par 0<sup>gr</sup>,07 de sulfate d'ammoniaque.

Récoltes.

	3 novembre. 1 <sup>re</sup> récolte.	6 novembre. 2 <sup>e</sup> récolte.	Récolte totale.
N° 1 . . . . .	14,4	10,0	24,4
2 . . . . .	8,2	4,2	12,4
3 . . . . .	7,2	7,4	14,6

Rapports des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.		Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1.	$\frac{14,4}{7,2} = 2,00$		$\frac{24,4}{14,6} = 1,7$
N <sup>o</sup> 3.	$\frac{7,2}{8,2} = 0,88$		$\frac{14,6}{12,4} = 1,2$

Les essais qui contiennent du *sulfate de fer* et du *sulfate de zinc* ont encore donné de plus fortes récoltes que les essais privés de fer ou de zinc et contenant la même quantité d'acide sulfurique que les premiers ; d'ailleurs, le mélange artificiel du n<sup>o</sup> 3 de la cinquième expérience qui contient plus d'acide sulfurique que celui du n<sup>o</sup> 2 n'a pas été notablement plus fertile. C'est donc à l'*oxyde de zinc* et à l'*oxyde de fer*, et non à l'*acide sulfurique*, que les *sulfates de zinc et de fer* doivent leur efficacité.

J'ai répété les expériences qui précèdent avec des sels de fer et de zinc à acides différents, afin de confirmer encore ces résultats : j'ai cherché à établir sans conteste que tous ces sels agissent sur la végétation à l'égal des sulfates, quel que soit leur acide :

*Sixième expérience (3 août 1867).*

N <sup>o</sup> 1. Eau . . . . .	3000	Carbonate de potasse . . . . .	0,6
Sucre . . . . .	80	Carbonate de magnésie . . . . .	0,4
Acide tartrique . . . . .	3	Sulfate d'ammoniaque . . . . .	0,2
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	3,5	Silicate de potasse . . . . .	0,1
Phosphate d'ammoniaque . . . . .	0,6		

*Sulfate de zinc . . . . . 0,1.*

*Spores d'Aspergillus.*

2. Comme le N <sup>o</sup> 1, + <i>Sesquioxyde de fer</i> . . . . .	0,1
(une portion du sesquioxyde de fer est restée sans se dissoudre)	
3. Comme le N <sup>o</sup> 1, + <i>Lactate de fer</i> . . . . .	0,1
4. Comme le N <sup>o</sup> 1, + <i>Citrate de fer</i> . . . . .	0,1
5. Comme le N <sup>o</sup> 1, + <i>Sulfate de fer</i> . . . . .	0,1

Récoltes successives.

	6 août.	9 août.	12 août.
	1 <sup>re</sup> récolte.	2 <sup>e</sup> récolte.	3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1 . . . . .	gr. 4,2	gr. 2,4	gr. 1,4
2 . . . . .	9,2	5,2	2,0
3 . . . . .	10,5	6,7	3,2
4 . . . . .	9,2	6,8	4,0
5 . . . . .	9,7	6,0	3,2

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale
N <sup>os</sup> 1. . . . .	4,2	6,6	7,7
2. . . . .	9,2	14,4	16,4
3. . . . .	10,5	17,2	20,4
4. . . . .	9,2	16,0	20,0
5. . . . .	9,7	15,7	18,9

**Rapports des sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 2. . . . .	$\frac{9,2}{4,2} = 2,2$	$\frac{14,4}{6,6} = 2,2$	$\frac{16,4}{7,7} = 2,1$
N <sup>o</sup> 3. . . . .	$\frac{10,5}{4,2} = 2,5$	$\frac{17,2}{6,6} = 2,6$	$\frac{20,4}{7,7} = 2,7$
N <sup>o</sup> 4. . . . .	$\frac{9,2}{4,2} = 2,2$	$\frac{16,0}{6,6} = 2,4$	$\frac{20,0}{7,7} = 2,6$
N <sup>o</sup> 5. . . . .	$\frac{9,7}{4,2} = 2,3$	$\frac{15,7}{6,6} = 2,4$	$\frac{18,9}{7,7} = 2,5$

*Septième expérience (4 août 1866).*

N <sup>o</sup> 1. Eau. . . . .	3000	Sucre. . . . .	80
Acide tartrique. . . . .	3	Nitrate d'ammoniaque. . . . .	3,5
Phosphate d'amm. . . . .	0,6	Carbonate de potasse. . . . .	0,6
Carbonate de magn. . . . .	0,5	Sulfate d'ammoniaque. . . . .	0,3
Silicate de potasse. . . . .	0,4	Sulfate de fer. . . . .	0,1

*Spores d'Aspergillus.*

- N<sup>os</sup> 2. Comme le n<sup>o</sup> 1, + *sulfate de zinc*. 0,1  
 3. Comme le n<sup>o</sup> 1, + *nitrate de zinc*. 0,1  
 4. Comme le n<sup>o</sup> 1, + *lactate de zinc*. 0,1

**Récoltes successives.**

	7 août. 1 <sup>re</sup> récolte.	10 août. 2 <sup>e</sup> récolte.	13 août. 3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1. . . . .	2,1	2,7	2,5
2. . . . .	8,5	8,4	3,7
3. . . . .	4,0	7,5	6
4. . . . .	7,8	8	3,5

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1. . . . .	2,1	4,8	7,3
2. . . . .	8,5	16,9	20,6
3. . . . .	4	11,5	17,5
4. . . . .	7,8	15,8	19,3

Rapports des sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 2 N <sup>o</sup> 1	$\frac{8,5}{2,1} = 4$	$\frac{16,9}{4,8} = 3,5$	$\frac{20,6}{7,3} = 2,8$
N <sup>o</sup> 3 N <sup>o</sup> 1	$\frac{4}{2,1} = 2$	$\frac{11,5}{4,8} = 2,4$	$\frac{17,5}{7,3} = 2,4$
N <sup>o</sup> 4 N <sup>o</sup> 1	$\frac{7,8}{2,1} = 3,7$	$\frac{15,8}{4,8} = 3,3$	$\frac{19,3}{7,3} = 2,6$

Huitième expérience (28 décembre 1866).

N <sup>o</sup> 1. Eau.....	3000	Sucre.....	80
Acide tartrique...	3	Nitrate d'ammoniaque.....	3,5
Phosphate d'ammoniaque...	0,6	Carbonate de potasse.....	0,6
Carbonate de magnésic.....	0,5	Sulfate d'ammoniaque.....	0,3
Silicate de potasse.....	0,1		

Spores d'*Aspergillus*

- N<sup>o</sup> 2. Comme le n<sup>o</sup> 1 + nitrate de zinc 0,1. Citrate de fer 0,1.  
 N<sup>o</sup> 3. Comme le n<sup>o</sup> 1 + sulfate de fer 0,1. Acétate de zinc 0,1.  
 N<sup>o</sup> 4. Comme le n<sup>o</sup> 1 + sulfate de fer 0,1. Pas d'acétate de zinc.  
 N<sup>o</sup> 5. Comme le n<sup>o</sup> 1 + nitrate de fer 0,1. Sulfate de zinc 0,1.  
 N<sup>o</sup> 6. Comme le n<sup>o</sup> 1 + nitrate de fer 0,1. Pas de sulfate de zinc.  
 N<sup>o</sup> 7. Comme le n<sup>o</sup> 1 + acétate de zinc 0,1. Citrate de fer 0,1.  
 N<sup>o</sup> 8. Comme le n<sup>o</sup> 1 + acétate de zinc 0,1. Pas de citrate de fer.

Récoltes successives.

	31 décembre. 1 <sup>re</sup> récolte.	3 janvier. 2 <sup>e</sup> récolte.	6 janvier. 3 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1....	1,9	1,5	1,5
2....	6,5	10,5	4
3....	7,2	10	3,3
4....	2,6	3,2	1,8
5....	6,4	10,5	3,7
6....	2	1,7	2,5
7....	6,8	9,3	4,5
8....	4,3	5,5	0,5

Sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>os</sup> 1....	1,9	3,4	4,9
2....	6,5	17	21
3....	7,2	17,2	20,5
4....	2,6	5,8	7,6
5....	6,4	16,9	20,6
6....	2	3,7	6,2
7....	6,8	16,1	20,6
8....	4,3	9,8	10,3

Rapports des sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 2	$\frac{6,5}{1,9} = 3,4$	$\frac{17}{3,4} = 5$	$\frac{21}{4,9} = 4,3$
N <sup>o</sup> 3	$\frac{7,2}{2,6} = 2,8$	$\frac{17,2}{5,8} = 3$	$\frac{20,5}{7,6} = 2,7$
N <sup>o</sup> 5	$\frac{6,4}{2} = 3,2$	$\frac{16,9}{3,7} = 4,6$	$\frac{20,6}{6,2} = 3,3$
N <sup>o</sup> 7	$\frac{6,8}{4,3} = 1,6$	$\frac{16,1}{9,8} = 1,6$	$\frac{20,6}{10,3} = 2$

Remarquons en passant les nombres des n<sup>os</sup> 1 et 2 de la huitième expérience : ils indiquent que la suppression simultanée du sel de zinc et du sel de fer d'un milieu artificiel complet, diminue les récoltes dans une proportion plus considérable que la suppression de l'un ou de l'autre de ces sels, résultat parfaitement d'accord avec l'ensemble des faits.

Mais ce qu'il faut principalement remarquer, c'est que divers sels de zinc et de fer, c'est-à-dire le sulfate, le nitrate, le lactate, l'acétate de zinc d'une part ; et de l'autre le sulfate, le citrate, le nitrate, le lactate, l'oxyde de fer ont présenté dans leurs effets sur la végétation l'accord le plus satisfaisant : les rapports des récoltes avec et sans sel de zinc ont oscillé entre 2 : 1 et 4,6 : 1 ; les rapports qui représentent les effets des sels de fer sont compris entre 1,4 et 2,7.

Aussi je n'insisterais pas davantage sur cet ordre de faits, si je ne croyais utile de démontrer (et c'est là un point que les expériences qui précèdent n'ont pas éclairci) que le fer et le zinc ne peuvent se remplacer l'un l'autre dans l'acte de la végétation, contrairement à ce que la similitude de ces deux métaux pourrait faire présumer.

Neuvième expérience (3 août 1867).

N <sup>o</sup> 1. Eau, 3000 ; sucre, 80 ; acide tartrique, 3 ; nitrate d'ammoniaque, 3,5 ; phosphate d'ammoniaque, 0,6 ; carbonate de potasse, 0,6 ; carbonate de magnésie, 0,4 ; sulfate d'ammoniaque, 0,2 ; silicate de potasse, 0,1 . . . . .	} Sulfate de zinc . . . . . } Sulfate de fer . . . . .	gr. 0,1 0,1
Spores d' <i>Aspergillus</i> .		
N <sup>o</sup> 2. Idem . . . . .	Sulfate de zinc . . . . .	0,2
N <sup>o</sup> 3. Idem . . . . .	Sulfate de fer . . . . .	0,2

**Récoltes successives.**

	6 août. 1 <sup>re</sup> récolte.	9 août. 2 <sup>e</sup> récolte.	12 août. 3 <sup>e</sup> récolte.
	gr.	gr.	gr.
N <sup>os</sup> 1.....	9,7	6,0	3,2
2.....	5,3	2,3	4,0
3.....	4,8	3,3	1,7

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
	gr.	gr.	gr.
N <sup>os</sup> 1.....	9,7	15,7	18,9
2.....	5,3	7,6	11,6
3.....	4,8	8,1	9,8

**Rapports  
des sommes correspondantes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1 .....	$\frac{9,7}{5,3} = 1,8$	$\frac{15,7}{7,6} = 2,1$	$\frac{18,9}{11,6} = 1,6$
N <sup>o</sup> 2 .....	$\frac{9,7}{4,8} = 2,0$	$\frac{15,7}{8,1} = 1,9$	$\frac{18,9}{9,8} = 1,9$

*Dixième expérience (28 décembre 1866).*

N <sup>o</sup> 1. Eau, 3000; sucre, 80; acide tartrique, 3; ni- trate d'ammoniaque, 3,5; phosphate d'am- moniaque, 0,6; carbonate de potasse, 0,6; carbonate de magnésie, 0,4; sulfate d'am- moniaque, 0,2; silicate de potasse, 0,1..	} Nitrate de zine..... 0,4 } Citrate de fer..... 0,1
Spores d' <i>Aspergillus</i> .	
N <sup>o</sup> 2. Idem.....	Nitrate de zine..... 0,2
N <sup>o</sup> 3. Idem.....	Nitrate de zine..... 0,1
N <sup>o</sup> 4. Idem.....	Citrate de fer..... 0,2
N <sup>o</sup> 5. Idem.....	Citrate de fer..... 0,1

**Récoltes successives.**

	31 décembre. 1 <sup>re</sup> récolte.	3 janvier. 2 <sup>e</sup> récolte.	6 janvier. 3 <sup>e</sup> récolte.
	gr.	gr.	gr.
N <sup>os</sup> 1.....	6,5	10,5	4,0
2.....	4,5	6,2	1,0
3.....	3,2	3,4	2,3
4.....	2,1	3,2	2,2
5.....	1,9	2,2	2,2

Sommes des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>os</sup> 1.....	6,5	17,0	21,0
2.....	4,5	10,7	11,7
3.....	3,2	6,6	8,9
4.....	2,1	5,3	7,5
5.....	1,9	4,1	6,3

Rapports des sommes des récoltes :

	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1.....	$\frac{6,5}{4,5} = 1,4$	$\frac{17,0}{10,7} = 1,6$	$\frac{21,0}{11,7} = 1,9$
N <sup>o</sup> 2.....	$\frac{4,5}{3,2} = 1,4$	$\frac{10,7}{6,6} = 1,6$	$\frac{11,7}{8,9} = 1,3$
N <sup>o</sup> 1.....	$\frac{6,5}{2,1} = 3,1$	$\frac{17,0}{5,3} = 3,2$	$\frac{21,0}{7,5} = 2,8$
N <sup>o</sup> 4.....	$\frac{2,1}{1,9} = 1,1$	$\frac{5,3}{4,1} = 1,3$	$\frac{7,5}{6,3} = 1,2$

Résumons ces deux expériences :

Dans le milieu artificiel complet, qui contient *un sel de fer et un sel de zinc*, on a remplacé le sel de fer par un poids égal de sel de zinc et réciproquement : on a vu alors le poids des récoltes s'abaisser notablement (9<sup>e</sup> expérience); et presque au même degré que si l'on avait simplement supprimé l'un des deux sels (10<sup>e</sup> expérience). La seule conclusion légitime est que le fer et le zinc ont chacun dans la végétation de l'*Aspergillus* leur part d'influence propre; qu'à chacun d'eux est dévolu un rôle spécial.

Mais si le fer et le zinc ne peuvent se substituer l'un à l'autre, dans leur action sur l'*Aspergillus*, d'autres métaux ne pourraient-ils les remplacer? L'expérience seule peut répondre à cette question : il y a quelques années (voyez page 95), j'ai essayé l'action des sels de manganèse sur le développement de l'*Aspergillus*; ces sels ont produit des effets analogues à ceux des sels de fer et de zinc, mais moins constants, moins appréciables. Faut-il en conclure que les sels de manganèse ont agi par les traces de fer ou de zinc qu'ils pouvaient contenir, ou bien que le manganèse remplace le fer (ou même le zinc) physiologiquement, comme il

le remplace souvent dans les réactions chimiques? je ne me prononcerai point à cet égard.

Il est intéressant de connaître le rapport qui existe entre le poids de fer ou le poids de zinc ajouté dans un milieu artificiel, et l'augmentation de récolte qui résulte de cette addition. En appliquant le calcul aux nombres de la quatrième expérience (page 160), je trouve que : 4 gramme de zinc suffirait à augmenter la récolte de 953 grammes; et la cinquième expérience (page 160) conduit à ce résultat, que 4 gramme de fer fournirait un excédant de 857 grammes.

L'intervention de certains éléments chimiques *en proportions extrêmement petites*, pour former des poids de matière organisée relativement considérables, voilà assurément un fait bien remarquable dont nous avons déjà rencontré des exemples moins frappants, à propos de l'étude de l'azote, de l'acide phosphorique, de la potasse, de la magnésie, de l'acide sulfurique. J'irai plus loin : on ne saurait affirmer actuellement que le nombre 953, ni même un autre nombre, quelque grand qu'on l'imagine, représente la limite supérieure du rapport du poids du végétal au poids d'un élément chimique qui concourt à le former.

Cette influence de *quantités de matières indéfiniment petites* sur la végétation, explique pourquoi j'ai attaché une sérieuse importance au degré de pureté du milieu artificiel dans lequel se développe l'*Aspergillus* (voyez page 145).

Elle nous explique également pourquoi cette Mucédinée acquiert un certain développement dans un milieu où l'on a supprimé l'élément azoté, ou l'acide phosphorique, ou le fer, ou le zinc, etc. : ce n'est pas que ces éléments soient pour le végétal des *excitants* utiles dont il peut à la rigueur se passer; tous au contraire sont indispensables, même le zinc, même le fer; mais ceux qu'on a cru supprimer existent, en même temps que les autres, parmi les impuretés du milieu; telle est, du moins à mon avis, l'interprétation la plus naturelle des faits.

Les résultats qui précèdent sur l'action des sels de zinc et de

fer sur la végétation de l'*Aspergillus* sont entièrement nouveaux ; je vais les formuler par quelques propositions générales :

1° Il suffit de supprimer du *milieu type* indiqué page 138, l'*oxyde de zinc* ou l'*oxyde de fer*, pour voir le poids des récoltes s'abaisser sensiblement ;

2° L'action de ces oxydes sur la végétation se manifeste également quel que soit l'acide auquel ils sont combinés ;

3° Ils ne peuvent se substituer l'un à l'autre ;

4° Les rapports des récoltes obtenues avec et sans ces oxydes ont varié dans mes expériences entre les limites suivantes : Pour l'*oxyde de zinc* : rapport minimum 2 ; rapport maximum 4,6. Pour l'*oxyde de fer* : rapport minimum 1,4 ; rapport maximum 2,7.

2° Le rapport d'un certain poids de matière organisée au poids de zinc ou de fer qui a contribué à le former, a atteint, au maximum, les nombres suivants :

Pour le zinc.....	953.
Pour le fer.....	857.

*Influence favorable d'autres éléments minéraux sur le développement de l'Aspergillus.* — Les substances que nous avons examinées jusqu'ici sont certainement utiles, probablement nécessaires, à la végétation de l'*Aspergillus*. Sont-elles suffisantes? Ou bien d'autres éléments ajoutés aux premiers ne pourraient-ils pas accroître encore le poids des récoltes? Telle est la question qui trouve naturellement ici sa place :

*Première expérience (12 novembre 1865).*

N° 1 Eau.....	3000	Carbonate de potasse...	0,5
Sucre.....	80	Carbonate de magnésie.....	0,4
Acide tartrique.....	2	Sulfate d'amm.....	0,2
Nitrate d'ammoniaq....	3	Citrate de fer.....	0,1
Phosphate d'amm....	0,5	Sulfate de zinc.....	0,1

*Spores d'Aspergillus.*

N° 2. Comme le n° 1 +	{	cenclres de bois, 2.
	{	acide tartrique, 4.
N° 3. Comme le n° 1 +	{	terre cuite pulvérisée, 2.
	{	cenclres de bois, 1
	{	acide tartrique, 2

**Récoltes successives**

	15 nov. 1 <sup>re</sup> récolte.	18 nov. 2 <sup>e</sup> récolte.	21 novembre. 3 <sup>e</sup> récolte.	24 novembre. 4 <sup>e</sup> récolte.	28 novembre. 5 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1..	5,5	5,8	3,5	1,6	1,2
2..	6,8	7,5	5,0	2,9	1,5
3..	4,9	8,6	5,8	3,8	2,7

**Sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> réco.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> réco.	1 <sup>re</sup> 2 <sup>e</sup> 3 <sup>e</sup> récoltes.	1 <sup>re</sup> 2 <sup>e</sup> 3 <sup>e</sup> 4 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.
N <sup>os</sup> 1..	5,5	11,3	14,8	16,4	17,6
2..	6,8	14,3	19,3	22,2	23,7
3..	4,9	13,5	19,3	23,1	25,8

**Rapports des sommes des récoltes.**

	1 <sup>re</sup> récolte.	Les 2 premières récoltes.	Les 3 premières récoltes.	Les 4 premières récoltes.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 2	»	$\frac{14,3}{11,3} = 1,3$	$\frac{19,3}{14,8} = 1,3$	$\frac{22,2}{16,4} = 1,4$	$\frac{23,7}{17,6} = 1,3$
N <sup>o</sup> 3	»	$\frac{13,5}{11,3} = 1,2$	$\frac{19,3}{14,8} = 1,3$	$\frac{23,1}{16,4} = 1,4$	$\frac{25,8}{17,6} = 1,4$

*Deuxième expérience (6 novembre 1865).*

N<sup>os</sup> 1. Comme le n<sup>o</sup> 1 de la première expérience.

2. Comme le n<sup>o</sup> 1 + terre cuite pulvérisée, 2 gr.

3. Comme le n<sup>o</sup> 1 +  $\left\{ \begin{array}{l} \text{terre cuite, 1 gramme.} \\ \text{cendres de bois, 1 gramme.} \\ \text{acide tartrique, 1 gramme.} \end{array} \right.$

4. Comme le n<sup>o</sup> 1 +  $\left\{ \begin{array}{l} \text{terre cuite, 1 gr.} \\ \text{cendres, 0,5} \\ \text{acide tartrique, 1 gr.} \end{array} \right.$

5. Comme le n<sup>o</sup> 1 +  $\left\{ \begin{array}{l} \text{terre végétale. . . . . 2 gr.} \\ \text{acide tartrique. . . . . 2} \end{array} \right.$

**Récoltes successives.**

	9 novembre. 1 <sup>re</sup> récolte.	12 novembre. 2 <sup>e</sup> récolte.	15 novembre. 3 <sup>e</sup> récolte.	18 novembre. 4 <sup>e</sup> récolte.
N <sup>os</sup> 1..	gr. 9,2	gr. 3,6	gr. 2,4	gr. 1,0
2..	8,9	6,1	4,2	2,5
3..	9,5	6,7	4,3	2,8
4..	9,8	6,5	4,7	2,5
5..	8,3	5,7	3,8	2,5

Récolte totale.	Rapports des récoltes totales.
N <sup>o</sup> 1. . . . . 16,2	$\frac{N^o\ 2}{N^o\ 1} \dots \frac{21,7}{16,2} = 1,4$
2. . . . . 21,7	$\frac{N^o\ 3}{N^o\ 1} \dots \frac{23,3}{16,2} = 1,4$
3. . . . . 23,3	$\frac{N^o\ 4}{N^o\ 1} \dots \frac{23,5}{16,2} = 1,5$
4. . . . . 23,5	$\frac{N^o\ 5}{N^o\ 1} \dots \frac{20,3}{16,2} = 1,3$
5. . . . . 20,3	

Les récoltes ont donc été un peu plus fortes dans tous les essais avec addition de *matières minérales complexes* (terre cuite, cendres, terre végétale), que dans les autres essais, et les rapports des récoltes, avec et sans matières additionnelles, ont varié entre 1,2 et 1,5. Mais cet excédant de récoltes ne peut-il pas être attribué à l'action des substances précédemment étudiées (acide phosphorique, potasse, etc.), que renferment naturellement ces matières minérales complexes? Une expérience va lever cette objection :

*Troisième expérience (26 juin 1865).*

N<sup>o</sup> 1. Comme le n<sup>o</sup> 1 de la première expérience.

+	{	Phosphate d'ammoniaque. . . . . 0,3	Sulfate de zinc. . . . . 0,05
		Carbonate de potasse. . . . . 0,3	Sulfate de fer. . . . . 0,05
		Sulfate d'ammoniaque. . . . . 0,1	Acide tartrique. . . . . 2,00
		Carbonate de magnésie. . . . . 0,2	

N<sup>o</sup> 2. Comme le n<sup>o</sup> 1 de la première expérience.

+	{	Terre cuite pulvérisée. . . . . 1 gr.
		Cendres de bois. . . . . 1
		Acide tartrique, 2 grammes. . . . . 2

Récoltes successives.

	29 juin. 1 <sup>re</sup> récolte.	2 juillet. 2 <sup>e</sup> récolte.	5 juillet. 3 <sup>e</sup> récolte.	8 juillet. 4 <sup>e</sup> récolte.
	gr.	gr.	gr.	gr.
N <sup>o</sup> 1. . . . .	6	4,8	3,1	2,3
N <sup>o</sup> 2. . . . .	8	6,8	5,3	4

Récolte totale.	Rapports des récoltes totales.
N <sup>o</sup> 1. . . . . 16,2	$\frac{N^o\ 2}{N^o\ 1} \dots \frac{24,1}{16,2} = 1,5$
N <sup>o</sup> 2. . . . . 24,1	

Le n<sup>o</sup> 2 ne contient pas les éléments déjà étudiés, acide

phosphorique, potasse, etc., en plus grande proportion que le n° 1 : l'excédant de récolte du n° 2 sur le n° 1 ne peut donc être attribué qu'à l'influence de nouveaux éléments minéraux.

Mais cette influence ressort-elle évidemment des nombres obtenus? Les excès de récoltes correspondant aux essais qui ont reçu les matières supplémentaires ne sont-ils pas assez faibles pour rentrer dans les limites d'erreurs du procédé? Je ne le pense pas : car j'ai établi, dans l'exposé de la méthode (page 111), que des essais types convenablement préparés, et placés dans les mêmes circonstances, fournissent des récoltes dont les rapports sont compris entre 1 et 1,05. Or, les rapports observés dans les trois dernières expériences sortent de ces limites, puisqu'ils sont compris entre les nombres 1,2 et 1,5. Ces nombres révèlent donc un effet certain de la part *des substances additionnelles*, seule circonstance par laquelle différaient entre eux les essais des expériences que je viens de rapporter.

*Influence de la silice sur le développement de l'Aspergillus.* — Nous sommes naturellement conduits à rechercher à quels oxydes minéraux se rapportent les effets observés :

*Première expérience (4 mai 1868).*

N° 1. Eau, 500; sucre, 26,6; acide tartrique, 1,6; nitrate d'ammoniaque, 1,15; phosphate d'ammoniaque, 0,2; carbonate de potasse, 0,2; carbonate de magnésie, 0,2; sulfate d'ammoniaque, 0,053; sulfate de zinc, 0,033; sulfate de fer, 0,033.	Silicate de potasse..... 0,033 gr.
--	------------------------------------

*Spores d'Aspergillus.*

N° 2. Idem.....	Carbonate de potasse... 0,033 gr.
-----------------	-----------------------------------

	Récoltes.		
	7 mai, 1 <sup>re</sup> récolte.	10 mai, 2 <sup>e</sup> récolte.	Récolte totale.
	gr.	gr.	gr.
N° 1.....	4,9	2,5	7,4
2.....	4,0	2,1	6,1

Rapports des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.		Récolte totale.
$\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 2}$ .....	$\frac{4,9}{4,0} = 1,2$		$\frac{7,4}{6,1} = 1,2$

*Deuxième expérience (20 juin 1868).*

	gr.
N <sup>o</sup> 1. Eau, 1000; sucre, 53; acide tartrique, 3,2; nitrate d'ammoniaque, 2,3; phosphate d'ammoniaque, 0,4; carbonate de potasse, 0,4; carbonate de magnésie, 0,3; sulfate d'ammoniaque, 0,15; sulfate de zinc, 0,066; sulfate de fer, 0,066.	Silicate de potasse..... 0,066

*Spores d'Aspergillus.*

N <sup>o</sup> 2. Idem .....	gr.
	Carbonate de potasse. 0,066

	Récolte.		Rapport des deux récoltes.
	23 juin.		
	gr.		
N <sup>os</sup> 1.....	14,1	$\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 2} \dots$	$\frac{14,1}{10,2} = 1,4$
2.....	10,2		

*Troisième expérience (30 juin 1868).*

N <sup>os</sup> 1. Eau, 1000; sucre, 53; azote et matières minérales.....	gr.
	Silicate de potasse... 0,066
2. Idem.....	Silicate de potasse... 0,066
3. Idem. Le silicate est remplacé par :	Carbonate de potasse. 0,066

	Récoltes.		
	3 juillet.	6 juillet.	Récolte
	1 <sup>re</sup> récolte.	2 <sup>e</sup> récolte.	totale.
	gr.	gr.	gr.
N <sup>os</sup> 1.....	14,2	5,3	19,5
2.....	15,0	5,5	20,5
3.....	12,0	3,7	15,7

Rapports des récoltes.

	1 <sup>re</sup> récolte.		Récolte totale.
$\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 3}$ .....	$\frac{14,2}{12,0} = 1,2$		$\frac{19,5}{15,7} = 1,24$
$\frac{\text{N}^{\circ} 2}{\text{N}^{\circ} 3}$ .....	$\frac{15,0}{12,0} = 1,2$		$\frac{20,5}{15,7} = 1,3$

La *silice* du *silicate* de potasse a donc produit des effets me-

surés par des rapports supérieurs à 1,2 : Pour vérifier ces résultats, et pour m'assurer que l'efficacité du silicate est indépendante de la base à laquelle la silice est combinée, j'ai remplacé le sel de potasse par le sel de soude, et j'ai obtenu des résultats presque identiques, comme on peut en juger par l'expérience suivante :

Quatrième expérience (31 octobre 1868).

		gr.
N <sup>o</sup> 1.	Eau, 1500 ; sucre, 70 ; acide tartrique ; azote et matières minérales, en proportions convenables.	Silicate de potasse..... 0,07
2.	Idem.....	Carbonate de potasse..... 0,07
3.	Idem.....	Silicate de soude..... 0,07
4.	Idem.....	Carbonate de soude..... 0,07

Récolte totale en six jours.

Rapports des récoltes.

		gr.
N <sup>o</sup> 1.....	24,0	$\frac{N^o\ 1}{N^o\ 2} = \frac{24,0}{20,0} = 1,2$
2.....	20,0	
3.....	24,0	$\frac{N^o\ 3}{N^o\ 4} = \frac{24,0}{19,5} = 1,23$
4.....	19,5	

Tous les rapports qui mesurent les effets de la silice sur la végétation sont voisins de l'unité, mais néanmoins supérieurs à 1,2 ; ils sont donc concluants au même titre que les nombres des expériences des pages 168, 169 et 170 ; la remarque de la page 171 s'applique ici sans restriction.

La troisième expérience nous a donné un excédant de récolte de 4<sup>gr</sup>,8 pour une addition de silicate de potasse de 0<sup>gr</sup>,066 contenant 0<sup>gr</sup>,015 de silicium : le rapport de l'excédant de récolte

au silicium est  $\frac{4,8}{0,015} = 320$ . Ce rapport est considérable ; à cet

égard, il se rapproche des nombres correspondants relatifs au potassium, au phosphore, etc., etc.

1<sup>o</sup> En résumé, la silice est utile à la végétation de l'*Aspergillus*, car si on la supprime du milieu type, la récolte diminue sensiblement ;

2<sup>o</sup> Le rapport des récoltes avec et sans silice a varié entre les nombres 1,2 et 1,4.

3° Le rapport de l'excédant de récolte obtenu par addition de silice au silicium de cet oxyde est considérable; il s'est élevé jusqu'au nombre 320.

Nous pouvons à présent poser la loi générale relative à l'intervention des substances du *milieu type* dans l'organisation de la matière :

L'*Aspergillus* se développe avec vigueur dans un milieu formé de la réunion, en proportions convenables, de 12 substances chimiques de composition définie; le concours simultané de toutes ces substances est essentiel, car il suffit d'en supprimer une seule à la fois pour voir la récolte s'abaisser dans un rapport différent de l'unité et variable d'une substance à l'autre; les quantités de chaque corps simple qui interviennent pour former un même poids de végétal varient selon la nature du corps simple, depuis des nombres de même ordre de grandeur que le poids du végétal jusqu'à des fractions de ce poids extrêmement petites.

*Existe-t-il des éléments autres que ceux qui constituent le milieu type, capables de rendre plus vigoureuse la végétation de l'Aspergillus?* — Demandons-nous maintenant si le milieu formé de la réunion de ces douze éléments, *supposés purs*, est la réalisation la plus parfaite d'un sol fertile. En d'autres termes, n'existe-t-il pas encore d'autres éléments capables d'augmenter le poids des récoltes, soit qu'on les ajoute aux premiers, soit qu'on les substitue à eux? Dans cette hypothèse, à quel genre de progrès serait subordonnée la découverte de ces nouvelles substances? Telles sont les questions auxquelles je vais essayer de répondre par induction.

Les essais types, dans les meilleures conditions, ont fourni, pour 80 grammes de matières nutritives, environ 25 grammes de plante à l'état sec. Or, si en modifiant le milieu artificiel, nous parvenions à accroître notablement ce poids de 25 grammes, ce simple fait nous révélerait l'efficacité de nouveaux éléments.

1° Pour atteindre ce but, nous pourrions suivre la voie que nous nous sommes déjà tracée : ajouter au milieu type des matières minérales complexes, telles que cendres, terre cuite pul-

vérifiée, etc., et chercher si cette modification augmente le poids des récoltes. Or, nous avons vu ces matières complexes, introduites dans un milieu artificiel, accroître le poids des récoltes suivant des rapports compris entre 1,2 et 1,5 (page 174) ; le silicate de potasse ajouté dans le même milieu a fourni des rapports compris entre 1,2 et 1,4. Les effets numériques ont donc été sensiblement les mêmes de part et d'autre ; les cendres, la terre cuite, etc., n'ont probablement agi que par leur silice, et ne fourniraient plus dans le milieu complet que des accroissements de récoltes insignifiants.

2° Des substances convenablement choisies ne se montreraient-elles pas plus efficaces que les cendres et les autres matières minérales complexes essayées jusqu'ici ? La quatrième expérience de la page 172 va nous éclairer sur ce point.

Le n° 1, après avoir donné 24 grammes de récolte, contenait encore 5 grammes de sucre ; or, en admettant que les 70 grammes de sucre et même les 4 grammes d'acide tartrique de cet essai disparaissent au profit de la plante, on arrive par le calcul à une récolte maximum de 27<sup>rs</sup>,3 qui ne saurait être dépassée dans la pratique. Le rapport du poids théorique au poids obtenu est donc  $\frac{27,3}{24} = 1,1$ . Ce rapport représente la limite des effets que l'on pourrait atteindre par l'addition de substances quelconques au milieu type : de ce côté, un progrès sérieux est donc encore irréalisable.

3° Ne peut-on pas espérer atteindre à des rendements plus élevés, en substituant aux composés du *milieu artificiel* indiqué précédemment, d'autres composés mieux appropriés aux besoins de l'*Aspergillus* ? A cet égard, les substances chimiques qui se rapprochent le plus des combinaisons d'origine organique ne présentent-elles pas des chances de succès ? L'expérience ne s'est pas montrée favorable à cette vue, car l'*Aspergillus* s'est moins bien développé dans des milieux naturels que dans notre milieu artificiel.

*Expérience (20 octobre 1868).*

- N<sup>o</sup> 1. . . . Milieu artificiel de la page 115 (80 grammes de matières solides pour 1500 d'eau)  
 2. . . . Eau de levûre de bière avec acide tartrique (80 grammes de matières solides pour 1500 d'eau).  
 3. . . . Urine avec acide tartrique (80 grammes de matières solides pour 1500 d'eau).  
 4. . . . Infusion de *noix de galle* avec acide tartrique (80 grammes de matières solides pour 1500 d'eau).

	Récoltes.		
	23 octobre. 1 <sup>re</sup> récolte.	26 octobre. 2 <sup>e</sup> récolte.	Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1. . . .	gr. 17,4	gr. 8,2	gr. 25,3
2. . . .	7	8	15
3. . . .	6	0,8	6,8
4. . . .	1,4	0,4	1,8

Rapports des récoltes totales.

N <sup>o</sup> 1	$\frac{25,3}{15} = 1,7$
N <sup>o</sup> 2	.....
N <sup>o</sup> 1	$\frac{25,3}{6,8} = 3,7$
N <sup>o</sup> 3	.....
N <sup>o</sup> 1	$\frac{25,3}{1,8} = 14$
N <sup>o</sup> 4	.....

On sera sans doute surpris de voir un mélange artificiel formé des combinaisons qui s'écartent le plus par leur formule des composés organiques, se montrer plus apte à l'assimilation que des liquides naturels extraits de la substance même des êtres organisés. Ce résultat, fort remarquable d'ailleurs, n'est pourtant pas en contradiction avec les faits connus : car admettre que les composés les plus semblables par leur forme à la substance des végétaux sont les plus assimilables, c'est une hypothèse gratuite qui ne repose sur aucune loi expérimentale. D'autre part, on comprend qu'un milieu artificiel dont chaque élément a été convenablement choisi, soit mieux approprié aux besoins d'un végétal qu'un milieu naturel formé d'éléments rassemblés au hasard.

4<sup>e</sup> Si nous avons atteint à peu près le poids maximum de récolte que peut fournir dans un temps donné un certain poids de matières, est-ce à dire que les éléments chimiques dont l'efficacité

a été reconnue jusqu'ici forment la liste complète des éléments essentiels à l'*Aspergillus*? Je ne le pense pas; car les substances dont se compose le milieu type ne sont pas d'une pureté absolue. Or, admettons qu'un élément essentiel à la végétation se trouve parmi les impuretés du milieu en proportion extrêmement petite; il résulte des considérations exposées à la page 167, que cette proportion, si minime qu'elle soit, suffit peut-être à la formation de 25 grammes de plante: dès lors l'influence de cet élément a dû nécessairement nous échapper. Mais si l'on purifiait davantage le milieu type, l'élément que je considère venant à manquer, la récolte pourrait s'abaisser au-dessous de 25 grammes. Si un pareil résultat se produisait, il nous mettrait sur la trace de nouveaux éléments essentiels à l'*Aspergillus*. C'est par suite d'un perfectionnement de ce genre que l'influence du fer et du zinc s'est manifestée.

En résumé, le poids de récolte que nous obtenons dans les essais types est peu inférieur au poids maximum qu'il est possible d'atteindre; et le milieu artificiel de ces essais est mieux approprié au développement de l'*Aspergillus* que les milieux naturels.

Outre les éléments dont nous avons constaté l'efficacité sur la végétation de cette Mucédinée, *peut-être* en existe-t-il encore d'autres non moins essentiels; mais la découverte de ces éléments est subordonnée à la possibilité de purifier le milieu qui a servi jusqu'ici aux expériences.

*Discussion générale des résultats précédents.* — L'intérêt qui s'attache à la connaissance exacte du *milieu artificiel* approprié à la végétation, m'engage à revenir encore sur les expériences précédentes, afin d'en préciser le sens, et d'en déduire la marche générale à suivre pour étudier à fond l'influence d'un élément essentiel à la végétation:

1° Les *oxydes* du milieu type ont été ordinairement employés sous la forme de *sels*. Pour constater l'utilité d'un *sel* pour le développement de l'*Aspergillus*, il suffit de faire végéter cette Mucédinée dans deux milieux: l'un contient le sel en question avec

tous les autres éléments essentiels, dans l'autre le sel seul est supprimé; on prend ensuite le rapport du poids de la première récolte au poids de la seconde,

Si ce rapport est  $> 1$ ; s'il surpasse l'unité d'une quantité supérieure à l'*erreur relative* du procédé; enfin, si ce résultat a été obtenu un certain nombre de fois, on est simplement en droit de conclure que : *le sel dont il s'agit, ajouté à un milieu convenablement choisi, a la propriété d'accroître dans un certain rapport le poids des récoltes.*

Si l'on se reporte aux expériences faites en vue de démontrer l'action du sulfate de zinc sur l'*Aspergillus*, par exemple (page 159), on reconnaîtra que j'ai appliqué rigoureusement ce principe.

2° Il importe de savoir si l'effet produit par le sel est dû à l'acide ou à la base.

Pour trancher cette question, ou, en d'autres termes, pour établir que l'effet d'un oxyde (acide ou alcalin) *sur le développement du végétal est un effet propre, indépendant de la nature de la base ou de l'acide combiné avec lui*, il faut essayer tour à tour l'action des différents sels de cet oxyde : tous doivent donner des résultats numériques comparables à ceux qu'a fournis le sel primitif.

C'est dans ce but qu'après avoir constaté l'efficacité du sulfate de zinc sur les progrès de la végétation, j'ai répété les premières expériences d'une part avec un autre sulfate, et de l'autre avec d'autres sels de zinc : azotate, lactate, etc. (pages 160 et suiv.).

3° Lorsqu'on a acquis la certitude qu'un *oxyde* est efficace sur la végétation, indépendamment des substances auxquelles il est combiné, il est intéressant de le remplacer par d'autres *oxydes analogues*, afin de décider : *si les effets observés sont communs à une classe de composés semblables par leur formule, ou bien s'ils sont la propriété exclusive des composés d'un seul radical.*

Par exemple, l'oxyde de fer, chimiquement analogue à l'oxyde de zinc, n'a pu le remplacer dans son action physiologique; j'ai dû en conclure que, probablement, l'efficacité des sels de zinc

dans les phénomènes de la vie appartient en propre aux seuls composés de ce métal.

4° Admettons que l'oxyde d'un radical se soit montré efficace à l'exclusion de tous les autres oxydes qu'on lui a substitués, il importe encore de le remplacer par d'autres composés du même radical, afin de déterminer : *quels sont, parmi tous les composés d'un même corps simple, ceux qui sont aptes à l'assimilation, et ceux qui ne le sont pas.*

Ainsi j'ai constaté que l'ammoniaque et l'acide azotique fournissent à l'*Aspergillus* l'azote nécessaire à sa constitution, tandis que l'acide nitreux, le cyanogène, paraissent dépourvus de cette propriété.

5° Par cet ensemble de recherches on parvient à établir que certains composés d'un même corps simple, ajoutés à un milieu convenablement choisi, augmentent le poids des récoltes du végétal, à l'exclusion de tous les autres composés de la chimie : dès lors il est manifeste que ce *corps simple* joue dans la formation de ce végétal un rôle important ; mais quel est ce rôle ? c'est là un sujet très-délicat qui exige des recherches spéciales pour chaque élément simple du *milieu type artificiel*.

Cette suite d'expériences a encore un autre but : j'ai posé en principe que certains éléments chimiques interviennent *nécessairement* dans la formation d'un végétal en proportions extrêmement minimales ; or l'accroissement de récoltes que nous attribuons à l'action d'un certain sel, peut fort bien résulter de l'action d'un autre élément qui fait partie des impuretés de ce sel. Par exemple, des traces d'alumine mêlées au *sulfate de zinc* n'expliqueraient-elles pas les effets de ce sel ? Cette objection perd de sa force à mesure que l'on vérifie par des essais plus nombreux les résultats obtenus avec un sel particulier. Si différents composés d'un même radical fournissent des résultats concordants, on n'a plus guère à redouter l'influence d'un corps étranger, dont les proportions et par suite les effets devraient varier beaucoup d'un composé à un autre. Si, de plus, les composés des autres corps simples, substitués à celui dont on

étudie l'influence, demeurent inactifs, l'efficacité propre de ce corps simple devient incontestable.

On m'objectera sans doute, et avec raison, que je n'ai pas suivi à la lettre le plan que je viens de tracer, pour chacun des éléments du *milieu artificiel*. Je répondrai que je ne prétends pas avoir épuisé toutes les questions relatives à l'étude physiologique de ce milieu ; que d'ailleurs toutes les expériences que j'ai énumérées ne sont pas nécessaires au même degré pour les divers éléments essentiels à la végétation : en général, les vérifications qui se rapportent à l'influence d'un élément doivent être d'autant plus nombreuses, que cet élément intervient en proportion plus faible pour produire un même effet, qu'il manifeste son influence moins nettement, qu'enfin il donne des résultats plus inattendus.

C'est ainsi que quelques expériences suffisaient pour établir l'utilité de l'élément phosphoré dans la végétation de l'*Aspergillus*, tandis que le fait de l'intervention des sels de zinc dans les phénomènes de la vie devait s'appuyer sur de nombreuses vérifications. Si les résultats très-nets auxquels je suis parvenu sur les sels de zinc ne peuvent guère s'expliquer par la présence de substances étrangères mêlées à ces sels, il reste des doutes sérieux à cet égard relativement à la silice dont les effets ont été faibles. Aussi je ne regarde pas comme définitives les expériences que j'ai faites jusqu'ici sur l'influence de la silice, bien que les effets des silicates dont je me suis servi soient incontestables.

*Expériences de vérification.* — Le procédé employé pour l'étude du *milieu artificiel* propre à la végétation de l'*Aspergillus*, peut recevoir une modification très-simple qui permet aux résultats de se présenter sous une forme plus saisissante :

On met à l'étuve deux essais identiques contenant chacun le milieu complet, moins un seul élément ; lorsqu'on a obtenu deux ou trois récoltes dans chacun d'eux, alors on ajoute dans l'un des deux essais seulement l'élément qui manque, et l'on continue à

récolter. Nous pouvons prévoir facilement les résultats des expériences ainsi disposées :

1° Les récoltes correspondantes des deux essais seront d'abord à peu près égales et faibles. Mais, à partir du moment où l'un des deux essais recevra l'élément complémentaire, les récoltes de ce dernier, s'élevant tout à coup, deviendront très-supérieures, et aux récoltes précédentes du même milieu, et aux récoltes de même ordre du milieu qui est resté incomplet. De cette double comparaison, de ce changement subit dans la valeur des nombres, résultera jusqu'à l'évidence l'efficacité de l'élément complémentaire.

2° Dans les expériences qui précèdent, on ajoutait dès l'origine de la végétation la substance complémentaire dans l'un des vases, et le rapport  $\frac{P}{P'}$  des récoltes totales avec et sans cet élément, en mesurait l'efficacité. Ici au contraire l'addition de cette substance n'a lieu qu'après avoir enlevé dans chaque vase un certain poids de Mucédinée  $p$ . Le rapport  $\frac{P - p}{P' - p}$  des récoltes obtenues à partir de ce moment, mesurera l'effet de cette substance. Or si  $\frac{P}{P'}$  est  $> 1$ , on voit facilement que  $\frac{P - p}{P' - p}$  est  $> \frac{P}{P'}$ , c'est-à-dire : que la modification du procédé que je propose aura pour résultat d'accroître les rapports qui servent de mesure aux effets des éléments du milieu artificiel.

Je vais recourir à l'expérience pour voir si elle confirmera ces prévisions :

*Expérience sur l'influence du sulfate d'ammoniaque (17 mai 1863).*

N° 1. Eau.....	3000	Sucre.....	65
Acide turtrique.....	1,5	Nitrate d'ammoniaque.....	3
Phosphate d'ammoniaque.....	0,5	Carbonate de potasse.....	0,5
Carbonate de magnésie..	0,2	Sels complexes.....	0,5

Spores d'*Aspergillus*.

*Pas de sulfates.*

N° 2. Identique au n° 1.

	N° 1.	N° 2.
	gr.	gr.
20 mai, 1 <sup>re</sup> récolte.....	0,2	0,3
26 mai, 2 <sup>e</sup> récolte.....	0,5	0,6
4 juin, 3 <sup>e</sup> récolte.....	0,9	0,5
4 juin, le n° 1 reçoit 0 <sup>gr</sup> ,2 de sulfate d'ammoniaque.		
13 juin, 4 <sup>e</sup> récolte.....	12,0	0,5

Rapport des deux dernières récoltes :

$$\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 2} \dots\dots \frac{12,0}{0,5} = 24.$$

L'efficacité de l'acide sulfurique ressort avec évidence du rapprochement de ces nombres, et le rapport 24 qui la mesure est très-supérieur au rapport maximum 15,4 obtenu par le procédé primitif (page 150).

*Expérience sur l'insuffisance du phosphore, du potassium, du magnésium et du soufre comme éléments minéraux (16 juin 1863).*

N° 1.....	Eau.....	3000	Sucre.....	80
	Nitrate d'amm.....	3	Acide tartrique.....	2
	Phosphate d'amm...	0,5	Carbonate de potasse.....	0,5
	Carb. de magnésie...	0,3	Sulfate d'ammoniaque.....	0,2
N° 2.....	Identique au n° 1.			

	N° 1	N° 2
	gr.	gr.
19 juin, 1 <sup>re</sup> récolte.....	1,7	1,8
22 juin, 2 <sup>e</sup> récolte.....	1,7	1,7
25 juin, 3 <sup>e</sup> récolte.....	0,6	0,8
25 juin : on ajoute dans le n° 1:		
	gr.	
Terre cuite.....	1	
Porcelaine pilée.....	1	
Carbonate de soude.....	0,1	
— de manganèse..	0,1	
— de chaux.....	0,1	
Citrate de fer.....	0,1	
28 juin, 4 <sup>e</sup> récolte.....	8,4	0,8

Rapport des deux dernières récoltes :  $\frac{\text{N}^{\circ} 1}{\text{N}^{\circ} 2} \dots\dots \frac{8,4}{0,8} = 10,5$

L'utilité des substances ajoutées le 25 juin s'est donc mani-

festée par un rapport égal à 10,5, alors que dans les expériences primitives (page 155), elle était mesurée au maximum par le nombre 5.

*Expérience sur le sulfate de zinc (23 juin 1867).*

N° 1.....	Eau.....	3000	gr.	Sucré.....	80	gr.
	Acide tartrique....	3		Nitrate d'ammoniaque.....	3,5	
	Phosphate d'ammonm..	0,5		Carbonate de potasse.....	0,5	
	Carb. de magnésie....	0,3		Sulfate d'ammoniaque.....	0,2	
	Sulfate de fer.....	0,1		Silicate de potasse.....	0,1	

Spores.

N° 2..... Comme le n° 1.

	N° 1.	N° 2.
	gr.	gr.
26 juin, 1 <sup>re</sup> récolte.....	2,6	2,7
29 juin, 2 <sup>o</sup> récolte.....	1,7	2
2 juillet, 3 <sup>o</sup> récolte.....	1,5	1,3
5 juillet, 4 <sup>e</sup> récolte.....	1,0	1,3
5 juillet, addition de 0 <sup>gr</sup> ,1 de sulfate de zinc dans le N° 1		
10 juillet, 5 <sup>e</sup> récolte.....	1,0	1,0

Rapport des deux dernières récoltes.

$$\frac{\text{N}^\circ 1}{\text{N}^\circ 2} \dots \dots \dots \frac{10}{1} = 10$$

*Autre expérience sur les sels de zinc (21 juillet 1867).*

N° 1. Comme le n° 1 de l'expérience précédente.

N° 2. Idem.

N° 3. Idem.

	N° 1.	N° 2.	N° 3.
	gr.	gr.	gr.
24 juillet, 1 <sup>re</sup> récolte.....	2,5	2,9	3,0
27 juillet, 2 <sup>o</sup> récolte.....	1,7	1,0	1,6
Le 27 juillet, on ajoute :			
Dans le n° 1 : 0,1 de chlorure de zinc,			
Dans le n° 2 : 0,1 d'oxyde de zinc.			
30 juillet, 3 <sup>o</sup> récolte.....	8,2	7,7	1,1

Rapports des récoltes du 30 juillet.

$$\frac{\text{N}^\circ 1}{\text{N}^\circ 3} \dots \dots \dots \frac{8,2}{1,1} = 7,5$$

$$\frac{\text{N}^\circ 2}{\text{N}^\circ 3} \dots \dots \dots \frac{7,7}{1,1} = 7$$

Ces deux dernières expériences confirment encore nos prévi-

sions : elles ne laissent aucun doute sur les bons effets des sels de zinc ; elles conduisent à des rapports dont le plus petit représenté par 7 : 1 est supérieur au rapport maximum 4,6 : 1 des expériences des pages 158 et suivantes.

Appliquons encore le procédé modifié à l'action des sels de fer : il serait intéressant de pouvoir amplifier les effets de ces sels par cela même qu'ils ont été assez faibles.

*Première expérience (23 juin 1867).*

N° 1....	Eau.....	3000	Sucre.....	80
	Acide tartrique.....	3	Nitrate d'amm.....	3,5
	Phosphate d'amm.....	0,5	Carbonate de potasse.....	0,5
	Carbonate de magnésic.	0,3	Sulfate d'amm.....	2
	Sulfate de zinc.....	0,1	Silicate de potasse.....	0,1

*Spores d'Aspergillus.*

*Pas de sel de fer.*

N° 2..... Comme le n° 1.

	N° 1.	N° 2.
26 juin. 1 <sup>re</sup> récolte.....	3,5	2,5
29 juin. 2 <sup>o</sup> récolte.....	3,8	4,2
2 juillet. 3 <sup>o</sup> récolte.....	4	3
5 juillet. 4 <sup>o</sup> récolte.....	1,2	1,5
5 juillet. Addition de 0 <sup>gr</sup> ,1 de sesqui-oxyde de fer dans n° 1.		
10 juillet. 5 <sup>o</sup> récolte.....	trop faible pour être récolté.	0,5

Rapport des deux dernières récoltes :  $\frac{N^{\circ} 1}{N^{\circ} 2}$  plus petit que l'unité.

*Deuxième expérience (3 août 1867).*

- N° 1..... Identique au n° 1 de la première expérience. Pas de sel de fer.  
 2..... Idem.  
 3..... Idem.  
 4..... Idem.

	N° 1.	N° 2.	N° 3.	N° 4.
	gr.	gr.	gr.	gr.
6 août, première récolte.....	3,5	2,7	5,3	6,3
9 août, deuxième récolte.....	3,1	2,5	2,3	1,7
9 août, on ajoute :				
0 <sup>gr</sup> ,1 de lactate de fer dans le n° 1.				
0 <sup>gr</sup> ,1 de sulfate de fer dans le n° 2.				
0 <sup>gr</sup> ,1 de chlorure de fer dans le n° 3.				
12 août, 3 <sup>e</sup> récolte :	2,2	poids inappréciable	4	poids inappr

**Rapports des récoltes du 12 août.**

$\frac{N^{\circ} 1}{N^{\circ} 4}$	... Supérieur à l'unité.
$\frac{N^{\circ} 3}{N^{\circ} 4}$	... Idem.
$\frac{N^{\circ} 2}{N^{\circ} 4}$	... Ne surpasse pas l'unité

*Troisième expérience (14 août 1867).*

- N<sup>o</sup> 1. . . . . Identique au n<sup>o</sup> 1 de la première expérience. Pas de sel de fer.  
 2. . . . . Idem.  
 3. . . . . Idem.

	N <sup>o</sup> 1	N <sup>o</sup> 2	N <sup>o</sup> 3
	—	—	—
17 août, 1 <sup>re</sup> récolte. . . . .	5	4,1	4,2
17 août : on ajoute 0 <sup>gr</sup> ,1 de sulfate de fer dans le n <sup>o</sup> 1.			
20 août, 2 <sup>o</sup> récolte. . . . .	5	3,4	3,2
20 août : on ajoute 0 <sup>gr</sup> ,1 de sulfate de fer dans le n <sup>o</sup> 2.			
20 août, 3 <sup>o</sup> récolte. . . . .	3,7	2,2	2,0

**Rapports des récoltes obtenues après addition du sel de fer.**

$$\frac{N^{\circ} 1}{N^{\circ} 3} \dots\dots\dots \frac{5 + 3,7}{3,2 + 2} = \frac{8,7}{5,2} = 1,7$$

$$\frac{N^{\circ} 2}{N^{\circ} 4} \dots\dots\dots \frac{2,2}{2} = 1,1$$

L'application du procédé modifié aux sels de fer a trompé nos prévisions :

Le poids des récoltes devait s'élever subitement après l'addition du sel de fer ; il n'en a rien été.

Les poids de récoltes des essais qui ont reçu le sel de fer devaient être, après cette addition, supérieurs aux poids de même ordre fournis par les milieux incomplets ; il n'en a pas toujours été ainsi.

Le rapport des poids des récoltes avec et sans sel de fer devait être plus grand que les nombres obtenus par le procédé ordinaire ; or presque toujours il a été moindre (voir page 164).

A cette différence entre les résultats relatifs au soufre, au zinc, etc., et les résultats singuliers qui se rapportent aux sels

de fer, correspond *certainement* une différence bien tranchée dans le rôle physiologique de ces corps simples.

Il serait prématuré de vouloir préciser le rôle tout spécial du fer dans le développement de l'*Aspergillus*; cependant nous pouvons tirer des résultats qui précèdent quelques inductions :

En ajoutant un sel de fer dans un milieu après plusieurs récoltes, j'ai complété ce milieu, et pourtant la végétation, après comme avant cette addition, est restée languissante. Si donc ce milieu est devenu impropre à une végétation vigoureuse, ce n'est pas qu'un élément essentiel y manque, c'est que par le fait même du développement de l'*Aspergillus* en l'absence des sels de fer, il a dû se former une substance vénéneuse pour la Mucédinée, substance que les sels de fer empêchent de se produire, mais ne peuvent détruire.

Cette interprétation des faits est d'accord avec ce que j'ai observé sur les fructifications de l'*Aspergillus* : en l'absence des sels de fer, elles se forment de plus en plus péniblement à mesure que le milieu d'où elles naissent a déjà produit un plus grand nombre de récoltes ; cette particularité ne s'observe pas dans un milieu où manque un élément essentiel autre que le fer.

D'ailleurs, on ne saurait douter de la formation d'un composé spécial par l'influence de la végétation *en l'absence des sels de fer* : Que l'on verse dans un liquide artificiel privé de fer, qui a déjà fourni deux ou trois récoltes d'*Aspergillus*, quelques gouttes d'un sel de sesquioxyde de fer, aussitôt une coloration rouge apparaît, d'autant plus intense que le nombre des récoltes est plus grand ; dans les liquides où l'*Aspergillus* a végété en présence d'un sel de fer, cette coloration ne se manifeste pas, par le sel de sesquioxyde. La substance qui provoque cette coloration est destructible par le chlore, le permanganate de potasse, etc. Peut-être ce composé serait-il l'acide sulfocyanhydrique ; mais cette hypothèse aurait besoin d'être examinée de plus près.

Quoi qu'il en soit, si l'on expose à l'air pendant plusieurs jours un liquide dans lequel la force végétative s'est affaiblie et qui contient cette substance, celle-ci disparaît, et le liquide redevient apte à la végétation.

Ces faits me portent à croire que le rôle des sels de fer dans l'acte du développement de l'*Aspergillus* consiste à empêcher la formation d'une substance vénéneuse qui, en leur absence, se développerait par l'influence de la végétation.

*Influence des quantités des éléments du milieu artificiel sur le poids des récoltes.* — Jusqu'ici je me suis attaché à fixer le sens général de la relation qui lie la présence d'un élément chimique dans un milieu artificiel au développement de l'*Aspergillus* dans ce milieu, sans rechercher la formule numérique de cette relation ; les nombres que j'ai cités avaient plutôt pour but de donner une idée nette de la grandeur des phénomènes, que de les mesurer avec précision.

Cependant, puisque les essais types, dans des circonstances bien déterminées, donnent des récoltes constantes à 1/20<sup>e</sup> près de leur valeur, on peut espérer déterminer avec assez de précision les relations numériques qui lient les variations de poids de chaque élément du milieu type, aux variations des récoltes produites par ce milieu. Je vais donner ici les résultats de quelques expériences sur ce sujet à peine ébauché.

Non-seulement les proportions suivant lesquelles les divers éléments d'un milieu artificiel sont associés influent sur le poids des récoltes de l'*Aspergillus*, mais encore l'espèce de Mucédinée qui se développe peut varier avec les proportions des éléments du milieu :

*Expérience du 19 août 1868.*

		gr.			gr.
N° 1. . . . .	Eau. . . . .	1000	Sucre. . . . .		50
	Acide tartrique . . .	2	Nitrate d'ammoniaque. . . . .		2,9
	Phosphate d'ammon. . .	0,48	Carbonate de potasse. . . . .		0,48
	Carb. de magnésie. . .	0,32	Sulfate d'ammoniaque. . . . .		0,18
	Sulfate de zinc . . .	0,048	Sulfate de fer. . . . .		0,048
	Silicate de potasse. . .	0,048			

Spores d'*Aspergillus*.

N° 2. . . . . Même quantité de sucre que dans le n° 1 ; la moitié seulement de la matière azotée et des matières minérales.

Spores d'*Aspergillus*.

J'ai fait trois récoltes successives dans chaque vase, puis j'ai recommencé identiquement les deux essais, en ayant soin tou-

tefois de ressemer toujours dans chaque essai les spores de la récolte précédente du même milieu. Après plusieurs opérations de ce genre, l'*Aspergillus* continuait à végéter absolument pur dans le n° 1; dans l'essai n° 2 il était complètement remplacé par le *Penicillium glaucum* qui avait peu à peu envahi la surface du liquide.

Ces deux champignons recherchent donc des milieux analogues, bien que chacun d'eux exige des conditions chimiques un peu différentes: résultat en harmonie avec les faits que M. Van Tieghem a observés sur le développement de ces deux Mucédinées dans des dissolutions de tannin.

Puisque les proportions des éléments du milieu ont assez d'influence pour provoquer l'apparition de telle ou telle espèce de Mucédinée, il importe, dans les recherches sur l'*Aspergillus*, de ne pas s'écarter notablement des proportions que j'ai indiquées page 115, si l'on veut cultiver sûrement cette plante à l'état pur.

Si l'on classe les éléments du milieu type, d'après l'ordre de leurs quantités respectives, l'eau se place en première ligne; aussi je vais rechercher comment varie le poids des récoltes obtenues dans un milieu lorsqu'on fait varier le poids de l'eau, celui des autres éléments restant constant.

*Expérience du 16 juillet 1867.*

N <sup>os</sup> 1. Sucre, acide tartrique, nitrate d'ammoniaque, matières minérales suivant les proportions ordinaires, 20 gr.....	Eau,	0 <sup>gr</sup>
<i>Spores d'Aspergillus.</i>		
2. Idem.....	Eau,	8
3. Idem.....	—	15
4. Idem.....	—	40
5. Idem.....	—	80
6. Idem.....	—	120
7. Idem.....	—	160
8. Idem.....	—	240
9. Idem.....	—	320
10. Idem.....	—	480
11. Idem.....	—	640
12. Idem.....	—	960
13. Idem.....	—	1920
14. Idem.....	—	3840
15. Idem.....	—	7680

Tous ces essais étaient placés dans des vases d'égale profondeur.

Récolte du 19 juillet.

N <sup>o</sup> 1.....	0
2.....	0
3.....	traces
4.....	0,6
5.....	1,54
6.....	2,56
7.....	2,6
8.....	3,0
9.....	3,04
10.....	2,8
11.....	3,6
12.....	3,18
13.....	3,2
14.....	3,2
15.....	3,1

La loi qui résume ce tableau est fort simple :

Le poids de la récolte augmente d'abord avec la quantité d'eau jusqu'à 240 grammes d'eau pour 20 grammes du mélange des éléments artificiels; à partir de cette quantité, il reste sensiblement constant.

Expérience du 29 juillet 1867.

N <sup>o</sup> 1. Sucre et autres éléments en proportions convenables, 20 grammes. Spores.....	Eau, 700
2. Idem.....	— 350

Sommes des récoltes successives.

	1 <sup>re</sup> août. 1 <sup>re</sup> récolte.	4 août. 1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	7 août. Récolte totale.
N <sup>o</sup> 1.....	3,6	5,2	5,7
N <sup>o</sup> 2.....	3,2	4,8	5,5

Cette expérience confirme la première; car les proportions d'eau sont ici supérieures à 240 grammes pour 20 grammes d'éléments nutritifs, et les récoltes des n<sup>os</sup> 1 et 2 sont sensiblement égales. Elle démontre, en outre, que cette égalité de poids s'applique non-seulement à la première récolte, mais aussi

aux sommes des récoltes successives de chaque essai, en particulier à la récolte totale.

Le développement des fructifications varie aussi avec les proportions d'eau ; dans des essais identiques aux n<sup>os</sup> 1, 2, 3, 4, 5, de l'expérience du 16 juillet, la surface de la Mucédinée est restée blanche même après six à sept jours de végétation ; dans des essais semblables aux n<sup>os</sup> 6 et 7, les spores se sont formées, mais avec beaucoup de lenteur. Enfin, dans le n<sup>o</sup> 8 et les essais suivants, les fructifications se sont formées avec régularité ; la surface de l'*Aspergillus*, de blanche est devenue brune, puis d'un noir uniforme après trois jours de végétation ; cependant les progrès des organes reproducteurs ont encore été un peu plus rapides à mesure que la proportion d'eau devenait plus forte.

En résumé, une trop faible proportion d'eau nuit au développement du mycélium et des spores ; à partir d'une quantité d'eau minima égale à 240 grammes pour 20 grammes d'éléments nutritifs, la Mucédinée se développe régulièrement, et le poids de récolte devient à peu près constant dans des vases d'égale profondeur, quelle que soit la quantité d'eau du milieu, pourvu que les autres éléments restent invariables.

Remarquons que 20 grammes d'éléments nutritifs ont donné au total 5,7 de Mucédinée qui exigent en outre, pour se développer normalement, 240 grammes d'eau au minimum. Le rapport du poids de l'eau utile à la végétation au poids de récolte qui se forme par son influence est donc au moins égal à  $\frac{240}{5,7} = \frac{42}{1}$ .

Dans le choix des proportions des éléments du milieu type, j'ai cherché à satisfaire, autant que possible, à cette condition : obtenir un poids déterminé de récolte avec le moindre poids des substances de ce milieu. Il suffirait donc d'employer 240 grammes d'eau pour 20 grammes des autres éléments du mélange artificiel, ou encore 1500 grammes d'eau pour 125 grammes de ces éléments ; mais pour tenir compte de l'évaporation de l'eau dans le cours de la végétation, j'ai employé généralement 80 grammes de matières solides pour 1500 centimètres cubes de dissolution (voir page 125).

Passons maintenant à la recherche de l'influence *des quantités de sucre* sur le poids de la récolte, tous les autres éléments restant invariables.

*Première expérience (24 décembre 1867).*

N° 1.	Eau, 2750; nitrate d'ammoniaque, 3,5; acide tartrique, 3; phosphate d'ammoniaque, 0,6; carbonate de potasse, 0,6; carbonate de magnésic, 0,5; sulfate d'ammoniaque, 0,3; citrate de fer, 0,1; sulfate de zinc, 0,1;	Sucre,	0
	Spores.		
N° 2.	Idem.....	Sucre,	10
3.	Idem.....	—	20
4.	Idem.....	—	40
5.	Idem.....	—	60
6.	Idem.....	—	80
7.	Idem.....	—	120
8.	Idem.....	—	160
9.	Idem.....	—	320
10.	Idem.....	—	640
11.	Idem.....	—	2260
12.	Idem.....	—	7400

Sommes des récoltes successives.

	28 décembre. 1 <sup>re</sup> récolte.	2 janvier. 1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	6 janvier. Récolte totale.
N° 1.....	—	—	—
1.....	0,27	0,27	0,27
2.....	2,7	3,28	3,46
3.....	3,9	5,45	7,27
4.....	6,7	9,32	13,02
5.....	9,15	12,78	16,94
6.....	10,2	14,27	19,94
7.....	13,8	19,24	23,18
8.....	15,4	19,96	24,47
9.....	23,1	24,1	28,2
10.....	22,8	24,7	28,4
11.....	22,2	23,37	24,67
12.....	4,4	5,38	7,18

**Sommes des récoltes diminuées de la récolte du n° 1, et rapportées aux récoltes correspondantes du n° 2 prises pour unité.**

N° 2.....	1 <sup>re</sup> récolte.	1 <sup>re</sup> et 2 <sup>e</sup> récoltes.	Récolte totale.	Poids du sucre.
1.....	1	1	1	10
3.....	1,5	1,7	2,2	20
4.....	2,6	3	4	40
5.....	3,7	4,2	5,2	60
6.....	4	4,7	6,2	80
7.....	5,6	6,3	7,2	120
8.....	6,2	6,6	7,6	160
9.....	9,5	8	8,8	320
10.....	9,3	8,2	8,8	640
11.....	9,2	7,8	7,7	2260
12.....	1,8	1,8	2,2	7400

La loi des effets produits par la variation de poids du sucre se dessine assez nettement dans ce dernier tableau :

1° La récolte totale — diminuée du poids de Mucédinée de l'essai privé de sucre — est d'abord à peu près proportionnelle au poids du sucre jusqu'au n° 4, c'est-à-dire jusqu'à la proportion de 15 grammes de sucre pour 1 litre d'eau ; elle croît plus lentement jusqu'au n° 9, qui contient 119 grammes de sucre par litre, puis elle diminue indéfiniment.

2° Les récoltes successives suivent une loi analogue, avec cette différence que, même dans les essais qui renferment très-peu de sucre, la récolte croît moins vite que le sucre.

3° L'accroissement de récolte totale produit par l'addition de 10 grammes de sucre aux autres éléments du milieu artificiel est 3<sup>sr</sup>,2. Le rapport minimum du poids du sucre au poids de matière organisée qu'il contribue à former est donc exprimé

$$\text{par } \frac{10}{3,2} = 3,1.$$

*Autre expérience.*

Le 3 mai 1868, j'ai préparé huit essais respectivement semblables aux huit premiers essais de la première expérience ; et

j'ai obtenu de chacun d'eux trois récoltes successives ; je ne donne ici que les nombres de la récolte totale.

Nos	Récolte totale.	Rapports des récoltes diminuées de celle du n° 1 à la récolte du n° 2.
	gr.	gr.
Nos 1.....	0,2	»
2.....	3,1	1
3.....	7,1	2,7
4.....	12,3	4,1
5.....	14,8	5
6.....	17,7	5,9
7.....	21,3	7,2
8.....	23,0	7,9

Ces nombres sont, dans leur ensemble, d'accord avec les nombres correspondants de la première expérience.

J'ai fait encore quelques recherches sur les effets physiologiques de diverses quantités d'acide tartrique ; l'expérience suivante résume les principaux résultats :

*Expérience sur les quantités d'acide tartrique (7 août 1867).*

N° 1. Eau, 700 gr.; sucre, 20 gr.; nitrate d'ammoniaque ; matières minérales en proportions convenables. Acide tartrique, 0,0  
Spores d'*Aspergillus*.

Nos	Idem.	Acide tartrique	gr.
Nos 2.	Idem.	Acide tartrique	0,7
3.	—	—	1,4
4.	—	—	2,8
5.	—	—	5,6
6.	—	—	8
7.	—	—	11
8.	—	—	22
9.	—	—	44
10.	—	—	88
11.	—	—	176

Nos	Récoltes.			Poids d'acide tartrique.
	10 août. 1 <sup>re</sup> récolte.	13 août. 2 <sup>e</sup> récolte.	Récolte totale.	
Nos 1.....	(Pas de Mucédinée : infusoires).			0,0
2.....	3,6	1,7	5,3	0,7
3.....	3,6	1,7	5,3	1,4
4.....	3,6	1,6	5,2	2,8
5.....	3,4	1,5	4,9	5,6
6.....	3,3	1,4	4,7	8
7.....	3,3	1,7	5	11
8.....	3	2,3	5,3	22
9.....	2,9	2,2	5,1	44
10.....	2,6	très-faible	2,6	88
11.....	0,4	inappréciable	0,4	176

Ces nombres prouvent :

1° Qu'il y a une proportion minima d'acide tartrique indispensable pour éviter l'apparition des infusoires ;

2° Qu'à partir de cette quantité minima (1 gramme pour 1000 d'eau environ), jusqu'à la proportion de 63 grammes par litre, le poids des récoltes est à peu près constant (du moins dans les conditions de cette expérience) ;

3° Qu'au delà de cette limite, le poids des récoltes diminue, et devient à peu près nul pour une proportion d'acide égale à 250 grammes par litre.

Ce qu'il faut remarquer ici en particulier, c'est la facilité avec laquelle l'*Aspergillus* supporte sans en souffrir des proportions considérables d'acide tartrique.

Ajoutons encore que cet acide se comporte d'une manière analogue envers les fructifications : dans les essais n<sup>os</sup> 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, le développement des spores a suivi une marche régulière ; dans le n<sup>o</sup> 9, il y a eu un retard sensible ; enfin les n<sup>os</sup> 10 et 11 n'ont pas donné traces de fructifications.

*Résultats analytiques.* — J'ai dit au commencement de ce travail que dans une étude chimique suivie sur la végétation dans les milieux artificiels, l'analyse doit venir corroborer les résultats de la synthèse : aussi je vais indiquer ici quelques nombres auxquels j'ai été conduit par voie analytique :

En dosant le sucre de plusieurs essais par la liqueur de Fehling, j'ai obtenu une relation assez constante entre le sucre disparu et le poids de plante formée :

Sucre disparu, C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> ,	Poids de plante formé.	Rapport du sucre à la plante,
gr.	gr.	
37,3	17,8	2,1
39	19,5	2
40	18	2,2
42	18	2,3
50	21	2,4
111	44,8	2,5
57	27,1	2,1
51	22	2,3
16	6,7	2,4

Rapport moyen du poids du sucre au poids de la récolte 2,3 : 1.

Je dois faire remarquer que ces nombres ont été obtenus dans des circonstances à peu près invariables, celles qui ont été déterminées dans l'exposé général de la Méthode, en sorte que je ne prétends point dès à présent qu'ils s'appliquent rigoureusement à tous les cas.

J'ai porté aussi mon attention sur les proportions de matières minérales que le végétal absorbe : j'ai incinéré au fourneau de coupellation des récoltes d'*Aspergillus* obtenues dans des conditions différentes, afin de connaître le poids des cendres contenues dans 100 grammes de ces diverses récoltes ; voici les résultats auxquels je suis parvenu :

*Première expérience (3 juillet 1866).*

Dans cette expérience, la Mucédinée a été simplement pressée à la main, séchée à 100° et ensuite incinérée.

N° 1. Eau, 3000 ; sucre 80

nitrate d'ammoniaque, 3 + { Matières minérales suivant  
les proportions ordinaires  
du milieu type. } 8<sup>gr</sup>,2  
acide tartrique, 8,5.  
Spores d'*Aspergillus*.

2. Idem..... Idem..... 5<sup>gr</sup>,0  
3. Idem..... Idem..... 0<sup>gr</sup>,7

	Poids total de trois récoltes successives.	Poids des cendres.	Poids des cendres pour 100 gr. de plante.
	gr.	gr.	gr.
N° 1.....	25	1,53	6,37
2.....	13	0,65	5,00
3.....	4	0,08	2,00

Plusieurs conséquences ressortent de la comparaison de ces nombres.

1° L'*Aspergillus* a pour les matières minérales du liquide qui le nourrit une faculté d'absorption considérable : en effet, les récoltes pèsent environ six fois plus à l'état humide qu'à l'état sec ; 100 grammes de plantes desséchées pèsent donc, étant humides, 600 grammes. Or, 600 grammes de récolte humide des n° 1, 2, 3 contenant respectivement 6<sup>gr</sup>,37, 5 grammes,



*Troisième expérience.*

On a mis à l'étuve des essais semblables au n° 2 et au n° 3 (1<sup>re</sup> expér.); mais les récoltes ont été pressées à l'étau et lavées à l'eau froide cinq ou six fois ; elles ont donné :

	gr.	
N° 2.....	1,7	de cendres pour 100 gr. de plante à l'état sec.
3.....	0,9	—

Rapprochons les nombres correspondants de ces trois expériences :

	1 <sup>re</sup> expérience.	2 <sup>e</sup> expérience.	3 <sup>e</sup> expérience.	
N° 2.....	5	3,9	1,7	pour 100 gr. de plante.
3.....	2	1,7	0,9....	—

Rapports de ces nombres.

$$\frac{\text{N}^\circ 2}{\text{N}^\circ 3} \dots\dots\dots \frac{5}{2} = 2,5 \quad \frac{3,9}{1,7} = 2,3 \quad \frac{1,7}{0,9} = 1,9$$

Ces nombres donnent lieu à deux remarques principales :

1° La presque totalité des matières minérales de la Mucedinée est soluble dans l'eau, puisque la proportion de ces matières paraît diminuer indéfiniment par des lavages réitérés à l'eau froide ;

2° Quel que soit le degré de purification des récoltes par des lavages à l'eau pure, les proportions de cendres qui correspondent à 100 grammes de plante desséchée varient toujours dans le même sens que celles des matières minérales des milieux artificiels ; mais les rapports des poids de ces cendres se rapprochent de l'unité à mesure que les poids eux-mêmes tendent vers 0.

*Du rôle des éléments du milieu type dans la végétation de l'Aspergillus.* — L'étude physiologique du milieu artificiel propre au développement de l'*Aspergillus* comprend deux questions : démontrer l'influence des éléments de ce milieu ; déterminer le rôle de chacun d'eux. Je pense avoir traité la première question assez complètement ; c'est à peine si j'ai effleuré la seconde.

A celle-ci se rattachent pourtant les deux derniers problèmes que j'ai abordés dans ce mémoire, je veux parler de la recherche des relations qui lient le poids de la plante au poids de chaque élément du milieu ; et de l'étude analytique des produits de la végétation. C'est ce que je vais essayer de prouver, en indiquant la marche à suivre pour jeter quelque lumière sur le rôle des éléments du milieu type dans le développement d'un végétal.

Pour déterminer le rôle d'un de ces éléments, il faut examiner s'il se transforme chimiquement, et en quels produits il se transforme. Ce genre de recherches appartient aux *procédés analytiques*, variables d'une substance à une autre. A cet égard, les résultats auxquels l'analyse m'a conduit précédemment indiquent bien que le sucre se transforme chimiquement, que les matières minérales se modifient ; mais la question de savoir en quoi consistent ces métamorphoses subsiste tout entière.

A mon avis, avant de chercher à pénétrer la nature intime de ces transformations chimiques, il importe de découvrir s'il existe un rapport constant entre le poids d'un élément transformé et le poids du végétal développé, ou bien si ce rapport est plus ou moins variable : de là résulte immédiatement la nécessité absolue ou l'utilité plus ou moins grande de cet élément pour l'organisation de la matière.

La *détermination de ce rapport*, et par suite la solution du problème qui nous occupe, semble appartenir à l'analyse : c'est l'analyse en effet qui nous a appris (page 194) que le rapport du poids du sucre modifié au poids de plante développée est sensiblement constant, résultat qui nous conduirait à admettre la nécessité de la transformation du sucre dans l'acte de la végétation, si cette vérité avait besoin d'être démontrée. Les matières minérales paraissent s'écarter de cette loi : car le rapport du poids des cendres de l'*Aspergillus* au poids de la Mucédinée a varié (page 195) avec la composition du milieu. Devons-nous en conclure que les matières minérales n'interviennent pas *en proportions définies* dans la formation du végétal ? Je ne le pense pas. Car une portion des matières minérales qui se sont transformées chimique-

ment au contact du végétal a dû se dissoudre dans le liquide ambiant et échapper à l'analyse ; en outre, le poids de ces matières contenues dans la Mucédinée a été augmenté par des sels absorbés physiquement, et variables avec la composition du milieu (car les végétaux peuvent absorber tout ce qui est soluble, même les poisons). En pesant les cendres du végétal, on n'a donc pas dosé, en réalité, les matières minérales transformées par la végétation. Ces causes d'erreurs s'appliquent naturellement à chacun des éléments dont les cendres du végétal se composent ; mais certains d'entre eux présentent encore à l'analyse d'autres difficultés : ce sont ces éléments qui interviennent dans l'acte de la végétation en proportions si minimes qu'il nous est impossible d'en fixer la limite inférieure ; en sorte que si l'analyse ne décelait aucune trace d'un pareil élément dans les cendres de l'*Aspergillus*, il ne serait pas démontré que ce végétal peut s'en passer, mais simplement qu'il en exige une proportion assez petite pour échapper aux procédés analytiques.

L'analyse sur le sujet qui nous occupe n'a donc pas donné tout ce qu'elle promettait ; la *synthèse* va nous offrir à cet égard des ressources nouvelles.

Prenons le cas particulier d'un milieu artificiel, d'ailleurs complet, qui contienne un de ses éléments en quantité petite par rapport à celle qui entre dans le milieu type : si le développement de l'*Aspergillus* est nécessairement corrélatif d'une modification chimique de cet élément, il est probable que celui-ci, dans le cas que j'ai supposé, se transformera en totalité par l'action prolongée de la végétation. J'ai constaté, par exemple, que l'*Aspergillus*, en se développant, fait disparaître tout le sucre qui existe dans un milieu en proportion suffisamment petite.

S'il en est ainsi, il suffira d'introduire dans des milieux identiques des quantités variables et relativement très-faibles de l'élément qu'on veut étudier, et de constater que le poids de cet élément est en rapport constant avec le poids total du végétal développé, pour en conclure que la transformation de l'un et le développement de l'autre ont entre eux une relation *nécessaire*.

Tel est le résultat que les variations des quantités de sucre nous ont offert (page 191) : tant que ce poids n'a pas dépassé 15 grammes par litre de liquide, l'accroissement du poids de la récolte totale a été proportionnel à l'augmentation du sucre : de ce seul fait résulte l'intervention du sucre dans la végétation en proportions définies. Il est vrai que, pour un même poids de sucre transformé, l'analyse nous a indiqué un poids de plante supérieur au poids déterminé par la synthèse (pages 192 et 194) ; mais les nombres auxquels l'analyse nous a conduit s'appliquent à des essais contenant de fortes proportions de sucre : dès lors, une portion de ce sucre, absorbé physiquement par les récoltes, a dû contribuer à en augmenter le poids.

Il serait donc intéressant d'appliquer le *procédé synthétique* à rechercher, si les éléments minéraux du milieu type, malgré leurs minimes proportions, sont absolument nécessaires à la végétation de l'*Aspergillus*.

#### CONCLUSIONS.

Il me paraît utile de rassembler ici les résultats les plus immédiats de mes études sur le développement de l'*Aspergillus* dans un milieu artificiel :

1° La méthode de recherches physiologiques fondée sur le développement des organismes inférieurs, en particulier des Mucédinées, dans les milieux artificiels est due à M. Pasteur, qui, le premier, a découvert un mélange de composés chimiques définis approprié à la vie de ces petites plantes.

2° J'ai donné, en un sens, à cette méthode la sûreté, la précision, la facilité d'application qui lui manquaient, en obtenant dans un milieu artificiel, des récoltes d'une Mucédinée spéciale, abondantes, de poids constant, sans mélange d'espèces étrangères.

3° J'ai montré qu'il suffit pour atteindre ce but relativement à l'*Aspergillus*, et obtenir sûrement en six jours 25 grammes de cette Mucédinée à 1/20° près, de réunir un certain nombre d'éléments favorables à la végétation :

1° *Éléments physiques.*

Une température de 35 degrés; un air humide et convenablement renouvelé; des vases peu profonds.

2° *Éléments chimiques.*

Oxygène de l'air.	
Eau.....	1500
Sucre.....	70
Acide tartrique.....	10
Ammoniaque.....	2,0
Acide phosphorique.....	0,4
Acide sulfurique.....	0,25
Silice.....	0,03
Potasse.....	0,4
Magnésic.....	0,2
Oxyde de zinc.....	0,04
Oxyde de fer.....	0,03

3° *Élément physiologique.*

Spores d'*Aspergillus*.

4° Le poids total de plante obtenu dans ces conditions ne s'écarte pas beaucoup du rendement théorique maximum que pourrait donner la même quantité de matières nutritives; il est supérieur au poids de Mucédinée qui peut se développer, à égales quantités de matières nutritives, sur un liquide organique naturel.

5° Le mode de développement de l'*Aspergillus*, principalement le poids de la récolte fourni dans un temps donné par un même milieu, varie suivant des lois dont j'ai précisé le sens, lorsqu'on fait varier une à une les circonstances physiques précédemment indiquées : la température, l'état hygrométrique de l'atmosphère, le renouvellement de l'air, la forme des vases.

6° Tous les éléments du milieu artificiel type concourent simultanément au développement du végétal; car si l'on supprime tour à tour chacun d'eux, le poids de la récolte subit une diminution qu'on ne saurait attribuer aux erreurs des expériences. M. Pasteur a mis en lumière l'intervention de l'oxygène, du sucre, de l'acide tartrique, de l'ammoniaque, de sels miné-

raux composés de phosphates alcalins et terreux, dans la végétation des Mucédinées. J'ai vérifié ces résultats ; j'ai mis hors de doute l'influence, déjà pressentie, de l'acide phosphorique, de la potasse, de la magnésie ; j'ai découvert l'efficacité plus inattendue de l'acide sulfurique, de l'oxyde de zinc, de l'oxyde de fer, de la silice, dans la végétation de l'*Aspergillus* ; j'ai montré que les effets de ces oxydes sont indépendants des sels dont ils font partie.

7° Les oxydes minéraux du milieu artificiel ne peuvent se remplacer physiologiquement les uns les autres : à chacun d'eux est dévolu un rôle spécial.

8° L'acide nitrique peut remplacer l'ammoniaque comme élément azoté ; l'acide nitreux et l'acide cyanhydrique paraissent impropres à l'assimilation.

9° Le fer paraît avoir pour rôle spécial d'empêcher la formation de certaines substances vénéneuses pour l'*Aspergillus*.

10° J'ai mesuré l'utilité des éléments chimiques essentiels au développement de l'*Aspergillus*, par le rapport du poids de récolte fourni par le milieu complet au poids de récolte obtenu en supprimant un à un chaque élément ; voici les valeurs maxima que ces rapports ont pu atteindre :

Par la suppression de l'oxygène.....		très-grand.
Id.	de l'eau.....	∞
Id.	du sucre.....	65
Id.	de l'acide tartrique.....	∞
Id.	de l'ammoniaque.....	153
Id.	de l'acide phosphorique...	182
Id.	de la magnésie.....	91
Id.	de la potasse.....	25
Id.	de l'acide sulfurique.....	24
Id.	de l'oxyde de zinc.....	10
Id.	de l'oxyde de fer.....	2,7
Id.	de la silice.....	1,4

11° Les poids des divers éléments du milieu artificiel qui concourent à former le végétal sont de divers ordres de grandeur : les uns sont supérieurs au poids du végétal lui-même ; les autres lui sont inférieurs, et atteignent des proportions extrême-

ment petites, dont nous ne pouvons fixer dès à présent la limite inférieure. Les nombres suivants donnent une idée assez nette du rapport du poids de chaque élément du milieu type au poids de Mucédinée qu'il contribue à former :

Rapport relatif à l'oxygène.....	2 ?
Id. à l'eau.....	42
Id. au sucre.....	3
	1
Id. à l'acide tartrique.....	<u>14</u>
	1
Id. à l'azote (de l'ammoniaque).....	<u>17</u>
	1
Id. au potassium (de la potasse).....	<u>64</u>
	1
Id. au phosphore (de l'acide phosphorique)	<u>157</u>
	1
Id. au magnésium.....	<u>200</u>
	1
Id. au soufre.....	<u>346</u>
	1
Id. au zinc.....	<u>953</u>
	1
Id. au fer.....	<u>857</u>
	1
Id. au silicium.....	<u>320</u>

12° Certains sels minéraux sont éminemment vénéneux pour l'*Aspergillus* ; voici quelques-uns de ces sels, avec les proportions minima qui nuisent sensiblement aux progrès du végétal :

Le nitrate d'argent est vénéneux à la dose min. de	$\frac{1}{1\ 600\ 000}$	du poids du liquide artific.
Le chlorure de mercure	idem	$\frac{1}{512\ 000}$ idem.
Le chlorure de platine	idem	$\frac{1}{8000}$ idem.
Le sulfate de cuivre	idem	$\frac{1}{240}$ idem.
L'acide sulfurique libre	idem	$\frac{1}{500}$ idem.

13° Les poids des éléments chimiques d'un milieu artificiel paraissent liés au poids de la récolte totale de ce milieu par des relations numériques assez simples et précises.

14° Les proportions des éléments du milieu artificiel exercent une influence marquée sur l'espèce de Mucédinée qui se développe dans ce milieu.

15° J'ai indiqué une modification de la méthode généralement suivie dans ce travail, qui permet de mieux faire ressortir les effets produits par les éléments du milieu type sur le développement de l'*Aspergillus*.

16° J'ai précisé la marche à suivre, soit pour étudier plus complètement l'influence des éléments chimiques dont j'ai reconnu l'utilité, soit pour en découvrir de nouveaux, soit pour pénétrer le rôle intime de chacun d'eux.

### III

#### CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.

Les résultats que je viens d'exposer ont moins d'importance par eux-mêmes que par les relations qu'ils présentent avec les lois fondamentales de la chimie des êtres inorganisés et surtout de la chimie générale des végétaux : ce sont ces relations que je vais essayer de mettre en lumière.

*Comparaison entre la formation des Mucédinées dans un milieu artificiel et la production des composés chimiques inorganisés.* — Je l'ai déjà dit (page 101), le développement d'un végétal peut être assimilé à la formation d'un composé chimique, en ce sens que l'un et l'autre peuvent se produire de toutes pièces par la réaction d'éléments chimiques définis dans des circonstances convenables. Cette vue n'est pas nouvelle; mais je crois, en m'appuyant sur les conclusions de mon travail, pouvoir la formuler avec plus de précision qu'on ne l'a fait jusqu'ici :

1° La formation d'un végétal (l'*Aspergillus*, par exemple), comme celle d'un composé chimique, est influencée par un certain nombre de circonstances physiques parmi lesquelles la température occupe le premier rang.

2° Le végétal et le composé chimique naissent de la réaction

de certains éléments chimiques, dont le concours simultané est essentiel ; car la suppression d'un seul élément suffit pour entraver les progrès de la réaction.

3° Dans l'un comme dans l'autre cas, la présence de certaines substances chimiques peut nuire à la réaction.

4° L'influence qu'exerce sur la production de ces êtres un composé chimique dépend, et de la forme du composé, et des éléments simples dont il est formé.

5° Il existe des relations numériques précises entre le poids du végétal ou du composé chimique et la composition quantitative du milieu au sein duquel ils se forment.

Mais il y a aussi entre les réactions de la chimie des êtres inorganisés et celles de la chimie des végétaux (Mucédinées) deux différences essentielles :

1° En général (sauf le cas des actions catalytiques), les poids des éléments chimiques qui interviennent dans la production d'un composé inorganisé sont de même ordre de grandeur ; les poids des éléments qui concourent à l'élaboration d'un végétal sont de différents ordres de grandeur ; et en particulier certains de ces éléments produisent des effets considérables, bien qu'ils soient en proportions extrêmement petites par rapport au poids du végétal.

2° Un composé inorganisé se forme en général par la réaction d'un petit nombre d'éléments chimiques définis ; un végétal exige le concours d'un plus grand nombre d'éléments : car dans le milieu complet dont je me suis servi, il entraînait douze composés définis contenant onze corps simples, et peut-être d'autres éléments non moins essentiels m'ont-ils échappé. Cette vue est fort éloignée de l'ancienne opinion qui regardait quatre corps simples : le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, comme suffisant à organiser la matière.

Je ne parle ici que des caractères purement chimiques : je laisse de côté l'intervention du germe, condition physiologique inhérente à l'organisation de la matière.

Cette comparaison nous conduit immédiatement à l'application de la végétation des Mucédinées à l'analyse chimique : en

effet, pour doser un élément en dissolution dans un liquide, on provoque d'ordinaire une réaction chimique, qui donne naissance à un composé solide en relation avec cet élément; or un végétal n'est-il pas une sorte de composé chimique solide dont la formation est intimement liée à la présence d'un grand nombre d'éléments définis?

Pour appliquer ce principe, on préparera deux vases contenant des milieux artificiels convenables et identiques; dans l'un d'eux, on ajoutera la substance qu'on veut analyser; on fera végéter l'*Aspergillus*, dans ces deux essais; et la différence de poids des deux récoltes donnera des indications sur la composition de la substance ajoutée.

Par exemple, pour rechercher l'acide phosphorique dans un mélange de sels, on préparera deux milieux artificiels contenant tous les éléments essentiels à la vie de l'*Aspergillus*, moins l'acide phosphorique; dans l'un d'eux on fera dissoudre le mélange salin; on sèmera dans les deux vases des spores d'*Aspergillus*, et la différence des récoltes donnera des indications sur l'acide phosphorique du mélange.

Cette méthode n'est probablement pas limitée à l'*analyse qualitative*; les relations numériques précises que nous avons entrevues entre le poids du végétal et le poids de chacun des éléments du milieu où il vit, nous portent à penser qu'elle se prêterait également à l'*analyse quantitative*.

Évidemment la méthode d'analyse que je propose ici n'est pas générale; mais il n'existe en réalité en chimie que des procédés d'analyse limités à un petit nombre de composés, et si l'on réfléchit au grand nombre de substances chimiques qui exercent sur l'*Aspergillus* une influence utile ou funeste, peut-être jugera-t-on cette méthode susceptible d'un certain degré de généralité.

Mais si elle ne présentait pas, dans certains cas, des avantages sérieux sur l'*analyse chimique proprement dite*, elle ne serait qu'une curiosité stérile, peu digne d'intérêt. Aussi je vais indiquer quelques cas dans lesquels elle aurait sans doute sur les autres procédés d'analyse une réelle supériorité.

Tous les agronomes reconnaissent l'insuffisance de l'analyse chimique appliquée à l'agriculture : c'est pour ce motif qu'on a proposé d'analyser les engrais et les terres par la végétation. Or, s'il est vrai que, au point de vue chimique, les Mucédinées se rapprochent considérablement des végétaux supérieurs (page 209), elles offrent à l'agriculture une méthode d'analyse qui, par la rapidité des opérations, par la facilité d'exécution, par les nombreux éléments chimiques qu'elle peut atteindre, par sa précision enfin, est incontestablement supérieure à la méthode d'analyse par les grands végétaux fondée sur le même principe (voy. page 54).

Les procédés analytiques de la chimie deviennent souvent impuissants à déceler de très-petites proportions d'un élément mêlé à une grande quantité de matières complexes : les Mucédinées, à cause de la facilité avec laquelle elles savent choisir les éléments qui leur conviennent dans les mélanges les plus compliqués, et aussi à cause des minimes proportions de certains composés qui suffisent à produire des différences de récoltes considérables, me paraissent merveilleusement appropriées à des cas de ce genre. Ainsi nous avons vu l'*Aspergillus* nettement impressionné par une proportion de nitrate d'argent égale à 1/1.600.000 du poids du liquide artificiel ; or dans l'eau pure le chlorure de sodium n'a pu déceler que 1/500.000 de sel d'argent, et dans les dissolutions salines, une proportion beaucoup plus forte. C'est ainsi que, n'ayant pu réussir à développer l'*Aspergillus* dans un liquide artificiel approprié, contenu dans un vase d'argent, j'ai dû en conclure que l'argent se dissout dans ce liquide, et pourtant les réactifs de ce métal n'y donnaient point de précipité.

Découvrir la forme du composé d'un élément chimique dans une dissolution, est un problème ordinairement fort délicat, quelquefois insoluble par les méthodes ordinaires. Or, l'action d'un élément chimique sur le développement des Mucédinées dépend de la forme du composé de cet élément. La méthode d'analyse par ces petits organismes trouve donc encore ici une application toute naturelle. Par exemple, on pourrait, dans

certaines liquides, distinguer par les Mucédinées l'azote à l'état d'acide nitrique ou d'ammoniaque, de l'azote à l'état d'acide nitreux ou d'acide cyanhydrique. Si l'expérience vérifiait cette hypothèse que l'action de l'acide sulfurique sur le développement de l'*Aspergillus* est due à l'effet propre de l'acide nitrique déplacé (page 137) l'étude du développement de cette Mucédinée pourrait nous éclairer sur le partage réciproque des acides et des bases dans une dissolution.

Mais je n'insiste pas davantage sur cet ordre de faits dont l'expérience seule peut fixer la valeur.

*Comment les résultats obtenus sur la végétation de l'Aspergillus se rattachent aux lois générales de la chimie des végétaux.* — Abordant des analogies d'un ordre plus élevé, je vais indiquer rapidement les rapports qui existent entre les faits consignés dans ce mémoire et les lois générales de la physiologie.

Bien que la question des générations spontanées soit aujourd'hui complètement épuisée, peut-être n'est-il pas sans intérêt de faire remarquer que mes recherches sur l'*Aspergillus* achèvent de renverser l'hypothèse fondamentale de l'hétérogénie : dans cette doctrine on est obligé d'admettre que la spontanéité ne se produit que dans les matières organiques naturelles : M. Pasteur fit voir que cette hypothèse est contraire aux faits, puisque les organismes inférieurs se développent spontanément dans les milieux artificiels comme dans les milieux naturels. Cependant il restait ce fait intéressant, que la vie progressait plus lentement dans les liquides artificiels que dans les matières naturelles, de sorte que celles-ci paraissaient avoir une force d'organisation supérieure à celle des milieux artificiels, hypothèse assez conforme à la doctrine de l'hétérogénie. Que devient cette hypothèse, s'il est prouvé, comme je le crois, du moins en ce qui concerne les Mucédinées, qu'un milieu artificiel convenablement choisi est plus apte à organiser la matière que les substances les plus putrescibles.

D'autre part, mes résultats sur l'*Aspergillus* ne sont que le développement et l'extension, en un sens, des résultats de M. Pasteur sur la végétation des organismes inférieurs dans les

milieux artificiels : ils confirment donc pleinement, quoique indirectement, la découverte par laquelle ce savant porta les derniers coups aux théories de Berzelius et de Liebig sur les fermentations.

Ainsi que nous l'avons remarqué précédemment, les grands végétaux empruntent leur carbone, leur hydrogène, leur oxygène à l'acide carbonique et à la vapeur d'eau, tandis que les Mucédinées prennent ces éléments au sucre.

Mais à part cette différence profonde, l'étude de ces deux sortes de végétaux nous révèle des analogies fort remarquables : tandis que l'acide nitrique ou l'ammoniaque, l'acide phosphorique, la potasse, font partie des milieux artificiels propres aux grands végétaux et aux organismes inférieurs, l'azote de l'acide nitreux et de l'acide cyanhydrique n'est point assimilable par ces deux sortes d'êtres vivants.

En dehors de ces résultats communs, il en est d'autres, acquis pour les seuls organismes inférieurs, et qui prouvent que la théorie chimique des phénomènes de la vie est plus avancée pour les petits végétaux que pour les grandes plantes :

1° La végétation des Mucédinées dans les milieux artificiels m'a donné des récoltes relativement plus fortes que celles qu'on obtient dans les milieux naturels ; au contraire, pour les grands végétaux, on n'a pas encore réussi à obtenir dans les sols artificiels un développement aussi abondant que dans les terrains naturels.

2° J'ai pu rendre constantes à  $1/20^e$  près les récoltes d'*Aspergillus* avec engrais complet, et j'ai obtenu entre le poids des récoltes et le poids de certains éléments du milieu artificiel, des relations numériques constantes : les expériences sur les végétaux supérieurs n'ont point approché de cette précision : il me semble aussi que les auteurs de ces expériences ne se sont pas toujours préoccupés autant que moi de déterminer l'erreur relative de leurs procédés, élément qui a une si grande importance dans la discussion des résultats de recherches précises.

3° J'ai eu soin dans mes expériences de supprimer du milieu complet un seul *oxyde* à la fois, de sorte que les effets observés se rapportent légitimement à cet *oxyde* ; au contraire, dans la

suite des expériences que j'ai rapportées sur les grands végétaux, cette condition n'a pas toujours été remplie; souvent un sel formé de deux oxydes a été supprimé en entier, et l'effet obtenu peut être attribué aux deux éléments.

4° J'ai pu mesurer les effets des divers éléments du milieu artificiel sur la végétation par des rapports bien supérieurs aux rapports correspondants des expériences qui ont pour objet les grands végétaux.

5° Outre les éléments dont la synthèse a constaté l'intervention directe dans la végétation des grandes plantes, j'ai découvert plusieurs éléments essentiels à la formation de l'*Aspergillus*: la magnésie, l'acide sulfurique, l'oxyde de zinc, l'oxyde de fer, la silice; l'un d'eux principalement, l'oxyde de zinc, n'a pas été signalé jusqu'ici comme élément essentiel à la vie des êtres organisés.

6° J'ai rendu manifeste l'intervention dans la vie de l'*Aspergillus* de certains éléments essentiels en proportions extrêmement petites, principe qui ne se dégageait pas aussi nettement des expériences relatives aux grands végétaux.

7° On ne s'est guère préoccupé jusqu'ici de l'influence de l'acidité ou de l'alcalinité des terrains sur les grands végétaux; or, on sait depuis longtemps quel rôle joue la nature acide ou alcaline des milieux dans le développement des êtres inférieurs.

Ces considérations nous conduisent naturellement à cette conclusion: puisque les phénomènes (sauf ceux qui concernent l'assimilation du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène) qui ont été étudiés à la fois dans les grands végétaux et dans les Mucédinées présentent des analogies complètes, n'est-il pas probable que les faits de même ordre observés jusqu'ici dans les seules Mucédinées se reproduisent chez les grands végétaux? En particulier, on ne peut guère se refuser à admettre l'influence de la nature acide ou alcaline du sol sur le développement des végétaux supérieurs comme sur les Mucédinées. L'efficacité du soufre, du magnésium, du silicium dans le développement de l'*Aspergillus* confirme les faits d'observations qui paraissent leur assigner un rôle utile dans la vie des grands végétaux. Et si les individus placés aux extrémités opposées de

la série des végétaux nous ont paru tellement semblables au point de vue chimique, comment ne pas appliquer ces analogies à tout le règne végétal ?

A un point de vue très-général, les phénomènes chimiques de la vie de l'*Aspergillus* peuvent se résumer en deux mots : d'une part, cet organisme consomme du sucre et de l'oxygène comme les animaux ; de l'autre, il exige l'intervention d'oxydes minéraux ( $AzH^4O$  ou  $AzO^3$ ,  $PhO^3$ ,  $KO$ ,  $MgO$ ,  $SO^3$ ,  $ZnO$ ,  $FeO$ ,  $SiO^3$ ) de même ordre que les oxydes assimilables par les végétaux supérieurs ( $CO^2$ ,  $H_2O$ ,  $AzH^4O$  ou  $AzO^3$ ,  $PhO^3$ ,  $KO$ ). C'est ainsi que les êtres vivants inférieurs rentrent dans la loi que posa, il y a trente ans, l'auteur de l'*Essai de statique chimique des êtres organisés*, et que de nouveaux composés chimiques paraissent devoir y rentrer également. La loi de M. Dumas, agrandie en deux sens, par les études chimiques sur les organismes inférieurs, demeure, avec son caractère primitif, la loi fondamentale de la chimie rationnelle des êtres vivants.

Ces considérations sont étroitement liées aux progrès de la science agricole : car la connaissance exacte du milieu propre au développement de chaque espèce de plante tend à substituer à l'empirisme les pratiques de culture rationnelles. C'est ce que j'ai déjà dit dans la première partie de ce travail, en parlant du système d'engrais chimiques de M. Ville qui repose sur ce principe ; mais j'ai exprimé des craintes sur l'insuffisance possible de ces engrais pour alimenter la végétation. Mes recherches expérimentales ont confirmé cette prévision : il est bien improbable que les grands végétaux puissent se contenter de trois ou quatre éléments minéraux, alors que les Mucédinées, organismes plus simples, exigent ces éléments et d'autres encore. Mais en même temps mes recherches indiquent qu'on pourra un jour en toute sûreté substituer des engrais chimiques, convenablement choisis, aux engrais naturels, puisque les milieux artificiels ne sont pas moins aptes que les milieux naturels à donner à la végétation toute sa vigueur.

On peut conclure encore de mes recherches que le milieu le plus propre au développement d'un végétal est moins approprié

aux besoins d'un autre végétal, et que si l'on sème les germes de ces deux espèces dans ce milieu, la première s'y développera seule, ou du moins finira par envahir le milieu tout entier aux dépens de la seconde. C'est au moins ce que l'expérience a prouvé à l'égard des moisissures : l'*Aspergillus* semé dans un milieu parfaitement approprié s'y développe seul ; les germes du *Penicillium* qui se trouvent dans l'air ou qu'on y sème parallèlement ne peuvent prendre le dessus. Mais si la composition du milieu est légèrement modifiée, le *Penicillium* envahit d'ordinaire la surface du liquide en tout ou en partie. (Page 187).

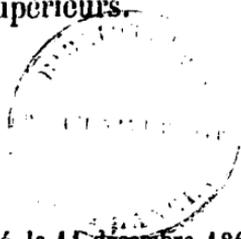
Appliquons ce principe aux espèces parasites qui vivent sur les végétaux ordinaires :

Si un végétal est semé dans un terrain chimiquement identique avec le milieu qui lui est propre, la substance de ce végétal contiendra les mêmes éléments, et les parasites dont les germes pullulent dans l'air ne pourront s'y implanter. Mais si la composition du terrain s'écarte de celle de ce milieu type, des parasites pourront envahir le végétal, comme l'oïdium la vigne, le botrytis la pomme de terre, etc., si la matière du végétal modifiée convient à leur développement. Sans doute on peut trouver des remèdes empiriques contre ces fléaux, mais le moyen rationnel de les détruire radicalement ne serait-il pas de ramener le sol à la composition du milieu type du végétal que l'on cultive ?

En résumé, l'emploi rationnel des engrais, si ces vues sont exactes, serait le plus sûr moyen d'assurer à chaque culture des rendements maxima en temps ordinaire, et de prévenir ces grandes perturbations physiologiques qui, sous le nom d'épidémies, viennent ravager de temps à autre de florissantes cultures.

Les considérations générales que je viens d'exposer paraîtront sans doute un peu vagues ; elles ne sont en effet fondées pour la plupart que sur l'induction ; mais elles s'appliquent à un ordre de faits si obscur encore et si important, que j'ai cru ne devoir rejeter aucun élément capable d'y porter quelque lumière.

Du moins ces considérations justifient, j'en ai la conviction, ce que j'ai avancé précédemment, c'est-à-dire que la méthode synthétique est plus féconde pour l'étude des Mucédinées que pour celle des grands végétaux, et que les résultats relatifs aux petits organismes peuvent préparer les voies pour l'étude des phénomènes de la vie chez les végétaux supérieurs.



Vu et approuvé, le 11 décembre 1869

*Le Doyen de la Faculté des sciences,*

**MILNE EDWARDS.**

Permis d'imprimer, le 12 décembre 1869.

*Le Vice-recteur de l'Académie de Paris,*

**A. MOURIER.**

Fig. 2.  
2/3

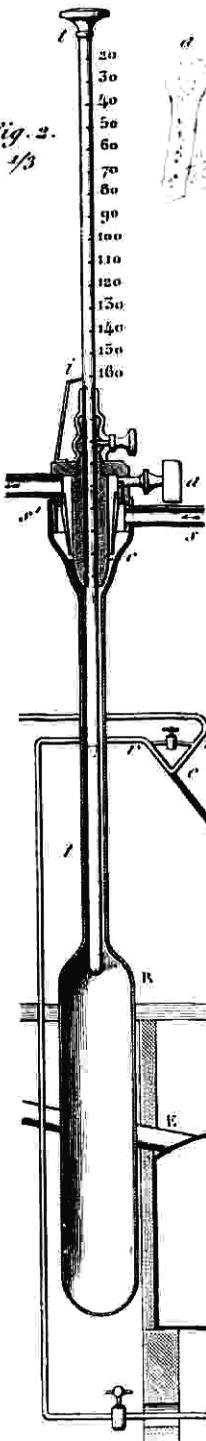


Fig. 3.

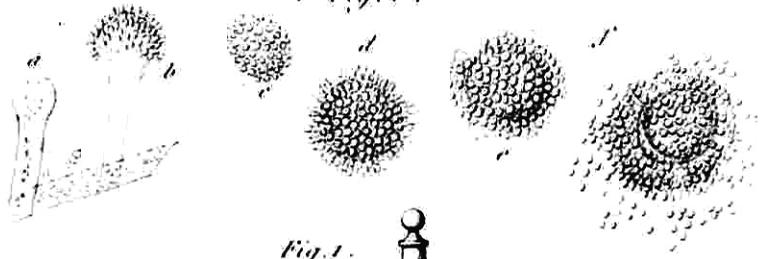
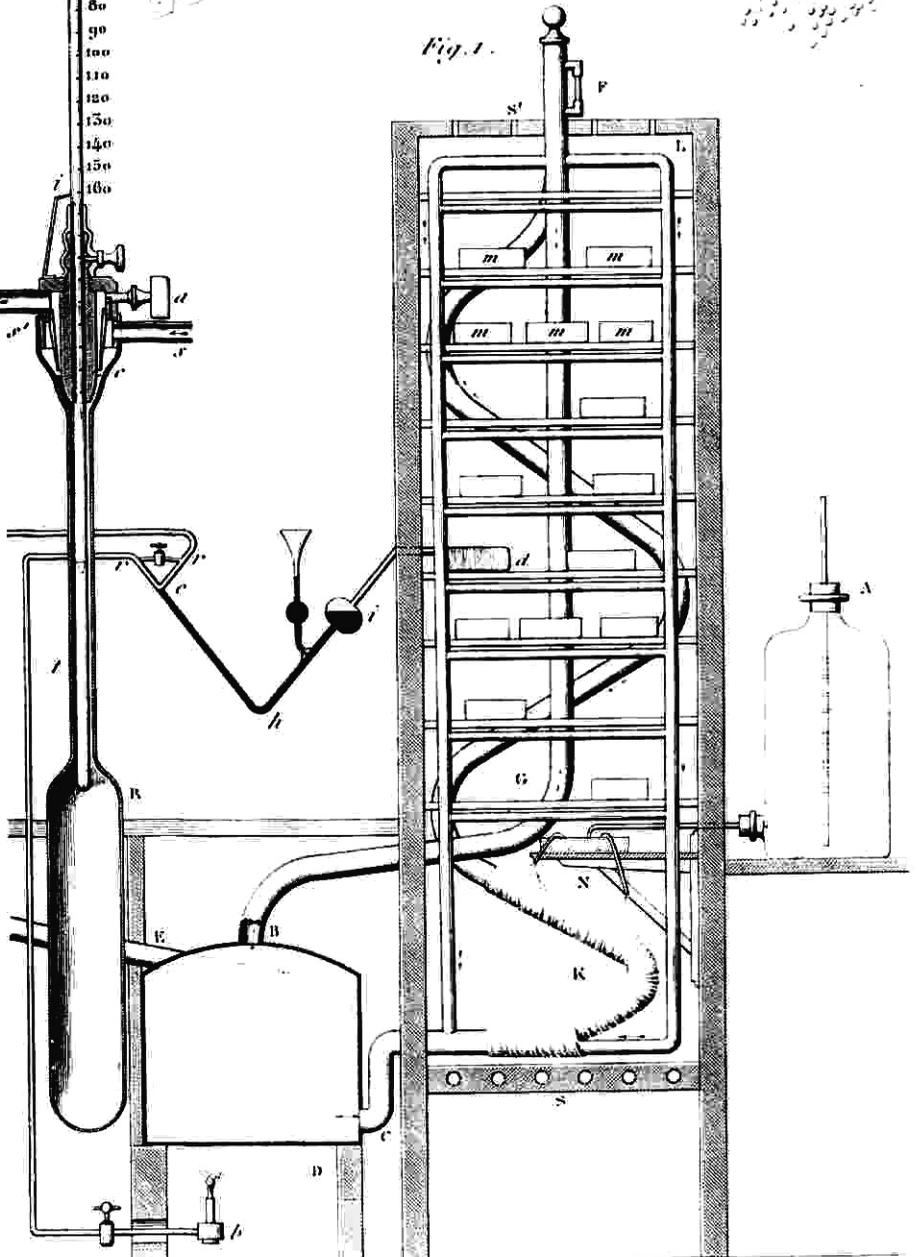


Fig. 1.



V. Luberbauer del.

Pierre sc.

Fig. 1. Etuve. 2. Thermorégulateur. 3. Aspergillus niger.

Dess. A. Schmitt et F. Gille. Montpellier & Paris.

# DEUXIÈME THÈSE.

---

QUESTIONS PROPOSÉES PAR LA FACULTÉ.

De la polarisation rotatoire.

Vu et approuvé, le 11 décembre 1869.

*Le Doyen de la Faculté des sciences,*

MILNE EDWARDS.

Permis d'imprimer, le 12 décembre 1869.

*Le Vice-recteur de l'Académie de Paris,*

A. MOURIER.