

# THÈSES

PRÉSENTÉES

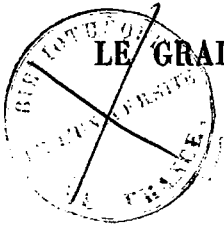
A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR L. ENGEL,

AGRÉGÉ A L'ANCIENNE FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG.



1<sup>re</sup> THÈSE. — LES FERMENTS ALCOOLIQUES.

2<sup>me</sup> THÈSE. — PROPOSITIONS D'HISTOIRE NATURELLE DONNÉES PAR  
LA FACULTÉ.

Soutenues le 21 mai 1872, devant la Commission d'Examen.

MM. HÉBERT, *Président.*

DUCHARTRE,  
BERT,

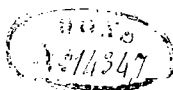
} *Examineurs*



PARIS

A. PARENT, IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE  
31, RUE MONSIEUR-LE-PRINCE, 31

1872



# ACADÉMIE DE PARIS

## FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

DOYEN .....	MILNE-EDWARDS, Professeur. Zoologie, Anatomie, Physiologie.
PROFESSEURS HONORAIRES.	{ DUMAS. BALARD.
	{ DELAFOSSE..... Minéralogie. CHASLES..... Géométrie supérieure. LE VERRIER..... Astronomie. DELAUNAY..... Mécanique physique. P. DESAINS..... Physique. LIOUVILLE..... Mécanique rationnelle. PUISEUX..... Astronomie. HÉBERT..... Géologie. DUCHARTRE..... Botanique. JAMIN..... Physique. SERRET..... Calcul différentiel et intégral. H. St <sup>e</sup> -CLAIRE-DEVILLE ... Chimie PASTEUR..... Chimie LACAZE-DUTHIERS..... Anatomie, Physiologie comparée, Zoologie. BERT..... Physiologie. HERMITE..... Algèbre supérieure. BRIOT..... Calcul des probabilités, Physique mathématique.
PROFESSEURS.....	
AGRÉGÉS.....	{ BERTRAND..... } Sciences mathématiques. J. VIEILLE.. } PELIGOT... } Sciences physiques.
SECRETARE .....	PHILIPPON.

# A M. PASTEUR

Membre de l'Institut.

Un ouvrage sur les ferments ne pouvait paraître sous de meilleurs auspices que sous ceux de l'illustre chimiste qui le premier a donné une explication rationnelle des fermentations. Vous avez bien voulu accepter la dédicace de cet opuscule, veuillez recevoir ici l'expression de ma gratitude profonde pour l'accueil bienveillant avec lequel vous avez reçu l'auteur et son travail.

D<sup>r</sup> ENGEL.

---

LES

# FERMENTS ALCOOLIQUES

---

## ÉTUDES MORPHOLOGIQUES

---

### CHAPITRE PREMIER.

INTRODUCTION HISTORIQUE. — MÉTHODES D'OBSERVATION.

§ 1<sup>er</sup>. — *Introduction historique.*

L'historique de nos connaissances morphologiques et biologiques des ferments alcooliques, pourrait se résumer en un petit nombre de lignes; quatre ou cinq dates, autant de découvertes réelles faites par un petit nombre de savants, c'est tout ce qu'il y aurait à noter. Quant aux *suppositions* introduites successivement dans la science, un gros volume suffirait à peine pour les exposer toutes. Des illusions d'optiques, des analogies fausses, et, par-dessus tout, l'imagination des observateurs, ont fait naître une foule de théories erronées.

Mon but étant d'exposer l'état actuel de la science, et de décrire mes propres découvertes, je pense qu'on ne m'accusera point d'être incomplet si je ne relate point toutes ces théories. Je m'arrêterai cependant à en exposer quelques-unes parce qu'elles sont les plus

modernes; que quelques-unes d'entre elles ont encore des partisans, et qu'elles sont défendues parfois avec talent par des mycologues distingués.

Il y a près de deux siècles (1680) que Leuwenhoek découvrit, dans des liquides en fermentation alcoolique, des corpuscules arrondis dont il ne put cependant déterminer la nature. Ce n'est que plus de cent cinquante ans après (1837), que Cagniard-Latour s'aperçut que ces corpuscules se reproduisaient par un mode de bourgeonnement particulier, et que c'était par conséquent des plantes. Cette découverte fut aussitôt confirmée par Schwann, Mitscherlich et beaucoup d'autres observateurs. Thénard trouva des corpuscules analogues dans une de ces fermentations qu'on a nommées *spontanées*, et que j'appellerai *fortuites* pour des motifs que j'exposerai plus tard.

Les cryptogamistes furent assez embarrassés pour assigner à la nouvelle plante le rang qu'elle devait occuper dans le règne végétal. Les uns la considérèrent comme étant un champignon, d'autres la prirent pour une algue.

Persoon (*Mycologia europæa*, 1, 96) avait créé, parmi les champignons, un genre dans lequel on fit rentrer le ferment de la bière : mais ce genre renfermant des espèces hétérogènes a dû être abandonné ; c'était le genre *Mycoderma*.

Meyen (*Wiegmann's Archiv*, 4<sup>e</sup> année, 2<sup>e</sup> vol., et *Pflanzenphysiologie*, 3<sup>e</sup> vol., 455), tout en considérant le ferment de la bière comme un champignon, eut l'heureuse idée de créer pour lui un genre nouveau sous le nom de *Saccharomyces*. Quoique ce nom laisse à désirer au point de vue chimique, et que le nom de *Glycomices* conviendrait mieux, je l'adopterai, à l'exemple de Rees, parce que c'est le deuxième en date et qu'il a été appliqué à une véritable espèce de ferment, autour de laquelle sont venues se grouper plus tard d'autres espèces présentant les mêmes caractères.

Le nom proposé par Meyen ne fut cependant point généralement

adopté. Lurpin, par exemple (*Comptes rendus*, p. 379; 1838), fit entrer le ferment dans le genre *Torula* de Persoon. Voici la diagnose de ce genre : « Sporæ in floccos moniliformes concatenatæ, dein « secedentes. » On préjugeait ainsi de la nature des cellules végétales du ferment, et on les assimilait à des spores, sans considérer leur mode de production qui est tout à fait différent, et sans faire la remarque que les *Torula* avaient un *mycelium*, quoique réduit à sa plus simple expression, mais qui n'existe jamais chez les ferments. La découverte des véritables spores a, du reste, démontré depuis que les ferments ne peuvent être rangés dans la famille des *Torulacées*.

Quant au genre *Hormiscium*, créé par Kunze, il renferme trop de choses hétérogènes pour pouvoir être conservé, et surtout être appliqué aux ferments.

Kützing se mit à la tête des cryptogamistes, qui soutenaient que les ferments étaient des algues, et il créa pour eux le genre *Cryptococcus*, adopté par un grand nombre d'auteurs. Voici comment un observateur français, très-distingué, espérait démontrer (en 1853), la nature phycologique du ferment de la bière : « On ne connaît que ce mode de propagation de ce végétal (c'est-à-dire le bourgeonnement), mais sa fructification à l'air n'a point été vue et ne pourra se voir, car il pourrit dès qu'il est en contact avec l'atmosphère. Cette plante est, en effet, une algue et non un champignon. » On verra plus loin que c'est en exposant, avec certaines précautions, les ferments à l'air humide, qu'on parvient à les faire fructifier; on admet, en outre, que les algues renferment de la chlorophylle ou des matières colorantes analogues, tandis que les champignons n'en renferment point. Les ferments sont donc des champignons, et le nom de *Cryptococcus* doit être abandonné.

Les belles recherches de M. Pasteur, sur la fermentation alcoolique (*Annales de chimie et de physique*, 3<sup>e</sup> série), ont fait faire les plus grands progrès à nos connaissances sur la biologie des fer-

ments alcooliques. Selon lui, la levure est le véritable agent qui provoque la fermentation par sa manière de vivre et de se propager. Pour vivre et se multiplier, la levure a besoin de se nourrir et de respirer : elle empruntera donc à la solution fermentescible les matériaux nécessaires à la nutrition et à la respiration. On voit dès lors quelles sont les conditions chimiques dans lesquelles doit se trouver un liquide pour pouvoir fermenter alcooliquement : il faut qu'il contienne de la glucose, une matière organique azotée soluble, ou un sel ammoniacal et des substances minérales, surtout du phosphate de potasse et du sulfate de magnésie. Le ferment empruntera à la glucose les éléments nécessaires pour former la cellulose, il empruntera au même corps de l'oxygène pour la respiration, et l'excrétera de nouveau sous forme d'acide carbonique : il décomposera donc la glucose et la transformera en alcool, acide carbonique et en quelques autres produits secondaires. Le protoplasma des cellules se formera aux dépens de la matière organique azotée, ou du sel ammoniacal dissous dans le liquide, et de certains éléments pris à la glucose; enfin les matières minérales, que l'on rencontre dans la cendre de levure, proviennent des sels en solution dans le liquide. Si l'une de ces conditions de composition chimique manque au liquide, la fermentation n'a point lieu, ou se fait d'une manière incomplète. Une solution d'eau glucosée pure n'est donc point susceptible de fermentation. Cette fermentation se produit cependant quelquefois, mais alors les nouvelles cellules se nourrissent aux dépens des cellules mortes, et qui ont laissé échapper leur protoplasma.

La théorie de M. Pasteur a été attaquée au point de vue chimique, mais elle satisfait complètement l'esprit au point de vue biologique, et la plupart des cryptogamistes y ont complètement adhéré.

Un autre progrès s'était accompli pendant ce temps dans la mycologie. Les frères Tulasne (*Comptes rendus*, 24 et 31 mars 1851, et plus tard, *Selecta fungorum carpologia*) découvrirent qu'une même espèce de champignons peut présenter plusieurs formes de

spores, et que, dans certaines familles, les Pyronomycètes, par exemple, il se développe, d'une manière certaine et successivement, plusieurs formes d'organes reproducteurs. Cette découverte capitale, sapa par la base tout l'ancien système de classification des champignons. On avait créé antérieurement autant de familles, de genres et d'espèces qu'il y avait de formes diverses d'organes reproducteurs : ces formes ne peuvent plus être considérées maintenant que comme des développements successifs d'une même espèce.

On ne tarda point à appliquer ces idées aux ferments. Tandis que M. Pasteur et d'autres observateurs considèrent les ferments comme des organismes *sui generis*, qui se développent dans les liquides fermentescibles par des germes propres et spécifiques, ces mêmes ferments ne seraient, d'après Bail, Hoffmann et Berkeley, que des états inférieurs, des espèces de végétations gemmiformes de champignons (moisissures) produisant à l'air des organes reproducteurs différents. Bail fait dériver le ferment de la bière du *Mucor Mucedo*, et le ferment du vin du *Botrytis acinorum*. Or, nous verrons plus loin que les formes du *Mucor Mucedo* cultivées dans le moût de bière, diffèrent totalement du *Saccharomyces cerevisiæ* ; quant au *Botrytis acinorum*, on connaît maintenant sa forme ascophore (le *Peziza Fuckeliana*) ; on connaît aussi les asques (ou thèques) du ferment, et par conséquent les deux formes ne peuvent appartenir au développement de la même espèce. Berkeley prétend que la levure de bière provient du *Penicillium glaucum*, et Hoffmann admet qu'un grand nombre de moisissures produisent des ferments alcooliques, mais que ce sont surtout le *Mucor Mucedo* et le *Penicillium glaucum* qui en fournissent la majeure partie.

On a voulu démontrer cette filiation par deux séries d'expériences ; d'abord en semant les spores de ces moisissures dans un liquide fermentescible et en les forçant d'y rester plongées ; puis, en exposant les ferments à l'air pour leur faire produire les formes aériennes. Hoffmann prétend avoir obtenu le ferment de la bière



par la première méthode, mais De Bary et beaucoup d'autres observateurs ont répété cette expérience sans obtenir de résultat, et moi-même j'ai essayé plus de vingt fois de faire naître la fermentation alcoolique au moyen de spores du *Penicillium* (en prenant toutes les précautions indiquées par Hoffmann), sans y parvenir jamais. Berkeley prétend avoir obtenu le *Penicillium* au moyen de la levure; or, la levure est presque toujours impure, et contient des spores de *Penicillium*. Il n'est donc point étonnant, qu'en prenant même certaines précautions qui semblent mettre l'observateur à l'abri de toute cause d'erreur, on n'obtienne des myceliums dans les cultures entreprises avec la levure.

Quant aux théories *fantaisistes* de Hallier, elles reposent sur des bases si peu scientifiques que tous les savants sont convenus actuellement de passer sous silence les nombreux travaux de ce fécond écrivain qui essaya de remplacer, dans la science, la raison par l'imagination du romancier.

Je voulais aussi passer sous silence la théorie de Karsten (*Bot. Zeitung* 1848 p. 457), qui consiste à prétendre que les cellules de ferment se forment aux dépens de petites vésicules qui se développent d'une manière normale dans les cellules charnues des fruits mous. Cette théorie n'a pu être confirmée par aucun autre observateur et elle est complètement abandonnée en Allemagne, sauf par son auteur. Elle a cependant été soutenue de nouveau dans une discussion célèbre et récente à l'Académie des sciences (*Comptes-rendus* p.)

Cette théorie donne naissance à des objections nombreuses. On trouve les ferments à la surface des fruits, sur les pédoncules et même sur les feuilles (Rees) : il faudrait donc admettre que les cellules d'organes si différents et dont le contenu est si divers, sont toutes aptes à produire les mêmes espèces de ferments. L'épicarpe et l'épiderme des feuilles produiraient les mêmes espèces que les cellules du sarcocarpe dont cependant le contenu est tout différent. Les divers fruits examinés par moi présentent tous les mêmes ferments; ces

fruits dont la composition est si variée, donneraient tous naissance aux mêmes espèces ? On trouve souvent sur le même fruit trois ou quatre espèces de ferments : des cellules de composition identique auraient donc la propriété de produire trois à quatre plantes cryptogames différentes ? Enfin la cellulose fongique diffère par ses propriétés cliniques de la cellulose des phanérogames et probablement le protoplasma des champignons est aussi très-différent de celui des phanérogames : peut-on admettre dans ce cas qu'une cellule de fruit puisse donner naissance à une cellule de ferment ? Est-il nécessaire d'invoquer la génération spontanée puisque les ferments fructifient et que leurs spores suffisent à en assurer la reproduction ? Cette discussion me rappelle celle qui eut lieu il y a une quarantaine d'années au sujet des vers intestinaux et où Bremser soutenait avoir vu une villosité intestinale en voie de transformation en tænia. On a abandonné la génération spontanée pour expliquer la naissance des vers intestinaux ; dans dix ans d'ici personne ne l'invoquera plus pour les ferments.

Les diverses tentatives faites pour découvrir la relation qui pouvait exister entre les ferments et les moisissures, amenèrent cependant un résultat singulier. Les liquides indiqués par Pasteur comme les plus susceptibles de subir la fermentation alcoolique, renferment tous les principes nécessaires à la nutrition des végétaux inférieurs comme le sont les moisissures. Il n'est donc pas étonnant qu'en essayant de cultiver un grand nombre de ces champignons inférieurs plongés dans un liquide fermentescible, on n'ait fini par en rencontrer qui fussent capables de produire la fermentation : il suffisait qu'ils eussent assez d'énergie vitale pour s'emparer d'une partie du carbone et de l'oxygène du sucre pour le transformer en alcool. C'est ce que l'on a observé pour le *Mucor Mucedo*. Ce champignon que l'on peut se procurer facilement en exposant du fumier de cheval frais dans une atmosphère humide (sous une cloche par exemple) se présente d'abord sous forme d'un mycelium assez épais, blanchâtre, disséminé

dans le fumier : au bout d'une huitaine de jours il émet des filaments fructifères de 2 à 3 centimètres de longueur, s'élevant dans l'air et surmontés de sporanges qui se remplissent, au bout de peu de temps, de spores nombreuses. Lorsqu'on sème ces spores dans un liquide fermentescible, en ayant soin de les y maintenir plongés, on les voit bientôt germer ; mais, au lieu de produire des articulations cylindriques et allongées, elles donnent naissance à des articles épais, boursoufflés pour ainsi dire et plus ou moins sphériques. Le même effet se produit lorsqu'on soumet le mycelium aux mêmes conditions d'existence. Ces articles ferments ont six à huit fois le diamètre du ferment de la bière, et c'est cette grosseur qui leur a fait donner le nom allemand de *Kugelhefe* (ferment boulet, ferment boule). Leur forme est rarement régulière, rarement aussi ils sont isolés : on voit d'après toute leur manière d'être que c'est une plante *dépaysée*, ou, si l'on me permet cette expression, un *ferment à regret*. Dès que ces articulations atteignent l'air, elles reprennent rapidement leur forme normale et la plante redevient un *Mucor* typique. Le développement de cette plante ne permet donc pas de la ranger parmi les ferments véritables : il fournit aussi un nouvel argument contre la prétendue affiliation qui existerait entre le ferment de la bière et le *Mucor Mucedo*.

Jusqu'alors on n'avait guère étudié en détail que le ferment de la bière. On connaissait, il est vrai, d'ancienne date, *la fleur du vin*, dont on avait même fait, par erreur, deux espèces différentes, le *Mycoderma cereviscæ* et le *Mycoderma vini*, et Kützing avait donné une courte diagnose de son *Cryptococcus vini* qui est, selon De Bary, (*Morphologie und Physiologie der Pilze*, p. 181) le ferment apiculé. Pasteur, dans ses études sur le vin, décrit deux espèces de ferments ; son ferment du vin a été appelé depuis par Rees, *Saccharomyces ellipticus* : il est différent du *Cryptococcus vini* de Kützing. Pasteur considérait comme variété de son ferment du vin la forme qu'il représente, fig. 7, de son ouvrage ; elle constitue une espèce bien tranchée connue

maintenant sous le nom de *Saccharomyces Pastorianus*. Rees, Béchamp (*Comptes rendus*, t. 59, p. 627) signale trois espèces de ferments observées par lui dans le vin : l'une ronde, l'autre ovale, la troisième allongée, mais le manque de description détaillée et de figures empêche de rapporter ces formes à des espèces connues.

La forme des cellules végétatives des ferments a, sans contredit, une grande valeur spécifique, cependant les caractères fournis par la fructification ont pour les ferments, comme pour les autres plantes, une valeur de premier ordre. La découverte du mode de fructification appartient à Rees (1869. *Botanische Zeitung*. Déc). Cette découverte me semble due au hasard, car l'auteur a probablement cherché à atteindre un tout autre but, celui de s'assurer de la justesse des théories de Berkeley, Hoffmann et Bail, en essayant de faire produire des myceliums aux globules de ferment. Voici du reste comment s'exprime cet observateur : « Il s'agissait de chercher si le mode de végétation du *Saccharomyces cerevisiæ*, dans les milieux susceptibles de fermentation, constitue toute l'évolution de ce champignon, où si ce végétal, privé de solutions fermentescibles, ne présente point d'autres formes de végétation et surtout de propagation. Des essais de cultures entreprises dans ce but, *devaient nécessairement* être faites sur des substances habitées ordinairement par des champignons destructeurs (moisissures) et au contact de l'air et d'une humidité suffisantes. Les substances les plus communément envahies par les moisissures tels que fruits frais ou confits, ne pouvaient servir à ces cultures à cause de leur richesse en sucre. Par contre, des tranches crues ou cuites de pommes de terre, de choux-rave, de topinambour me parurent être et furent en effet des *substrats* convenables : des tranches de carotte, malgré leur richesse en sucre, produisirent le même résultat. »

« Les cultures furent effectuées de la manière suivante, sur les substrats désignés. Après avoir lavé et laissé déposer la levûre, on en versait une couche mince et pâteuse sur les tranches et on l'étendait d'une façon aussi uniforme que possible. L'eau surabondante était

d'abord évaporée sous une cloche protectrice. Puis on transportait ces cultures dans une atmosphère dont le degré d'humidité était réglé, de façon à ce que les cultures se maintenaient toujours modérément humides. Il faut éviter que les tranches laissent suinter de l'eau ou qu'il en tombe sur le ferment; car, par une humidité trop abondante, la levûre semée est obligée de céder le pas à d'autres organismes qui s'y trouvaient déjà ou qui ont été introduits. Les bactéries s'y montrent alors souvent en abondance et envahissent le champ de culture, et, dans certaines circonstances, il y naît même des infusoires qui se nourrissent aux dépens des cellules de ferment.

« Pendant cette culture, le ferment infère de la bière se développe, pendant deux ou trois jours, comme s'il était dans une *solution fermentescible de faible concentration*. Les cellules du *Saccharomyces cerevisia*, contenant beaucoup d'eau et de grandes vacuoles, *bourgeonnent* lentement mais sans interruption, de façon qu'au bout de 24 heures le bord de la couche de ferment s'étend d'un  $1/2$  à  $3/4$  de millimètre et présente des limites onduleuses. »

Plus loin (p. 13), l'auteur dit : « On obtient la plus riche production de spores en laissant, pendant quelques jours, de la levûre de bière plusieurs fois lavée en contact avec de l'eau distillée, puis en décantant la plus grande partie de l'eau et en éloignant plus tard, journellement, les petites portions d'eau qui s'en séparent..... Dans les cas favorables, on obtient au bout de quinze à seize jours, une formation très-riche de spores. Mais très-souvent, surtout par un traitement peu approprié (lequel?) ces cultures ne donnent point de résultat, parce que le ferment lui-même entre en fermentation ou parce qu'il pourrit.

En réfléchissant aux observations et aux idées émises dans ces passages, je fus convaincu que l'auteur n'avait recherché qu'une chose : c'est de voir si le ferment de la bière, déposé sur des substances qui nourrissent des moisissures, se développerait lui-même en moisissure. La découverte de la sporulation était un effet du hasard, car malgré

les précautions prises par l'auteur, il paraît être rarement arrivé à des résultats très-favorables. J'ai essayé ces moyens et je les ai répétés de diverses manières et le résultat ne répondait jamais complètement à mon attente. Malgré l'exposition dans une chambre humide, souvent la levûre devenait trop sèche, d'autres fois elle pourrissait, d'autres fois encore des infusoires envahissaient la culture ; j'obtenais, il est vrai des thèques, mais trop peu nombreuses à mon gré et dans un espace de temps qui me paraissait aussi s'écouler avec trop de lenteur.

Dans la nature, les ferments trouvent certainement rarement ou jamais des tranches de pommes de terre, de topinambours, de choux-rave ou de carottes prêtes à les recevoir et à leur permettre d'y fructifier. D'un autre côté, les ferments déposés sur des tranches de ces végétaux continuent pendant quelques jours à vivre de leur vie végétative, ou, ainsi que le dit Rees, comme s'ils se développaient dans un *liquide fermentescible de faible concentration* ; c'est qu'en effet ils rencontrent à la surface de ces végétaux coupés et lésés un suc légèrement sucré et ils ne sporulent que lorsque ce suc, sorti des cellules lésées, est complètement épuisé. La dernière expérience de Rees le prouve surabondamment ; il a obtenu la fructification la plus riche en lavant la levûre avec de l'eau et en décantant journellement le liquide qui se rassemblait sur la levûre.

Il résulte de ces faits que pour faire fructifier les ferments, il faut les priver brusquement de toute nourriture, surtout sucrée, et de les exposer à une atmosphère humide ou mieux encore, sur une substance capable de leur fournir une humidité suffisante et constante.

J'avais déjà remarqué que les ferments se trouvaient assez abondamment sur les fruits, surtout sur ceux qui sont lésés, et que par conséquent ils existaient aussi dans les moûts fraîchement préparés.

N'est-il point possible dès lors que ces liquides répandus sur la terre ou sur les dalles humides des brasseries, y abandonnent les ferments qui alors se mettent à fructifier ? C'est en partant de cette

idée que je conçus le projet d'essayer de faire sporuler les ferments sur une substance qui ne contient point d'éléments nutritifs, mais capable de leur communiquer toujours l'humidité nécessaire. Cette substance c'est le plâtre.

§ 2. *Méthodes d'observation.*

Pour obtenir une fructification très-rapide des ferments, on gâche du plâtre et on le coule sur une surface polie mais non huilée, telle que verre à vitre, glace ou marbre. On donne au bloc une forme quelconque en rapport avec la forme intérieure du vase dans lequel on veut le conserver : mais ses dimensions en tous sens devront être d'environ deux centimètres plus étroites que les dimensions internes du vase, afin de laisser entre les parois de ce dernier et le bloc de plâtre, un espace suffisant pour y verser de l'eau distillée. On prend alors de la levûre très-fraîche, on décante autant que possible tout le liquide fermentescible qui surnage, et on délaye la levûre dans de l'eau distillée de façon à obtenir une bouillie très-fluide. On verse ensuite quelques gouttes de cette bouillie sur la surface polie du plâtre en inclinant le bloc en tous sens afin de répartir uniformément le liquide. Cette opération doit se faire avec rapidité, car le plâtre absorbant très-vite l'eau, la bouillie deviendrait trop épaisse, ne se répandrait pas avec assez d'uniformité et la couche de ferment deviendrait trop épaisse en certains endroits. On dépose alors le bloc dans le vase (la face recouverte de ferment étant tournée en haut) et l'on verse, au moyen d'un entonnoir de l'eau distillée entre les parois du vase et le bloc de plâtre, jusqu'à ce que le niveau du liquide arrive à environ un centimètre au-dessous de la face supérieure du bloc. On recouvre le vase d'une plaque de verre afin d'empêcher, autant que possible, le contact des poussières et des spores qui flottent dans l'air.

Cette manière d'opérer présente de très-grands avantages. D'abord

elle me paraît plus conforme que le procédé de Rees, à ce qui se passe probablement dans la nature; puis on supprime d'un coup toute nutrition et par conséquent les trois ou quatre jours pendant lesquels le ferment continue encore à végéter. Je ferai encore remarquer que Rees n'est jamais parvenu, par son procédé, à faire fructifier le ferment apiculé, tandis que sur le plâtre le ferment produit des thèques au bout de deux jours déjà. Par mon procédé enfin, tous les ferments observés (sauf l'apiculé) ont produit des spores mûres au bout de deux à quatre jours au plus. On peut ainsi suivre en très-peu de temps toute l'évolution de ces organes, il suffit d'enlever de temps en temps avec la pointe d'un canif une minime portion du ferment déposé et à l'examiner au microscope. J'ai encore pu observer que, par le procédé de Rees, on n'obtenait qu'un nombre relativement restreint de thèques, tandis que par le procédé au plâtre, on obtient au contraire une fructification très-riche.

Pour étudier le bourgeonnement du ferment ou la germination des spores, on se sert d'une chambre humide. En Allemagne on fait, pour ces sortes de recherches, de petits godets en verre assez commodes; ils sont ventrus inférieurement, leur bord supérieur est circulaire et rodé à l'émeri: on introduit dans ce petit vase quelques gouttelettes d'eau, on frotte le bord supérieur de suif, puis on dépose l'objet à examiner sur un petit verre à recouvrir avec une goutte de moût et on fixe le verre sur le rebord en suif, la goutte de moût tournée en bas. L'évaporation est empêchée presque complètement par le rebord en suif, et l'on a tout loisir d'étudier les phénomènes de la germination et du bourgeonnement.

Qu'on me permette d'ajouter à ce chapitre quelques réflexions sur une phase de la fermentation à son début. Lorsqu'on opère dans des vases de verre et que l'on n'ajoute au liquide fermentescible qu'une quantité presque imperceptible de levûre, on voit cependant, au bout d'un certain temps, le fond du vase se recouvrir d'un nuage composé de ferment en pleine végétation. Il y a donc dès lors fermentation,



d'après la théorie de Pasteur, mais cette fermentation n'est point accompagnée d'*effervescence*. Je crois qu'on a tort de considérer la fermentation comme débutant seulement au moment où les bulles gazeuses se forment. Les moûts, tant naturels qu'artificiels, ne sont point saturés d'acide carbonique; le plus souvent même ils ne tiennent en dissolution aucun gaz, surtout s'ils ont été chauffés; lors donc que le ferment, en végétant, émet de l'acide carbonique, ce gaz sera absorbé à l'instant même par le liquide et ne se manifestera point sous forme de bulles. Je suis convaincu que la chimie nous démontrera la formation d'alcool dans les moûts avant l'apparition de l'effervescence.

La grosseur des premières bulles qui se dégagent est en rapport avec la grandeur des globules du ferment: ainsi les *Saccharomyces exiguus, minor, ellipticus* dégagent les bulles les plus petites, le *Saccharomyces cerevisiæ* dégage des bulles moyennes et les bulles les plus grandes proviennent du *Saccharomyces Pastorianus*. Mais lorsque le ferment s'est accumulé en couche épaisse au fond du vase, la fermentation se produit en même temps dans les couches profondes, dans les moyennes et dans les superficielles, et les bulles dégagées se réunissent entre elles et ne sont plus en rapport de grosseur avec les cellules de ferment.

La fermentation alcoolique se développe de trois façons différentes. Dans l'industrie (brasserie, distillerie, boulangerie, etc.) on cultive pour ainsi dire les ferments, et on en réserve une certaine portion pour provoquer des fermentations ultérieures: j'appellerai ce mode de fermentation, *fermentation artificielle ou provoquée*. Lorsqu'au contraire on opère sur des moûts de fruits on abandonne ces moûts à eux-mêmes et la fermentation semble y naître spontanément. Jodin (Comptes-rendus, t. 53, p. 1253) a proposé de nommer ces espèces de fermentations, fermentations spontanées. Je n'aime point cette expression même avec les restrictions qu'y a ajoutées Jodin. La fermentation est tout aussi peu spontanée que les ferments qui la pro-

voquent sont dus à une génération spontanée: la fermentation des moûts n'est que la continuation de la fermentation commencée dans les fruits, et je crois préférable de lui donner le nom de *fermentation naturelle* puisqu'elle existe dans la nature même. Enfin la fermentation peut encore naître dans un liquide fermentescible, privé de ferment (liquide artificiel, ou moûts chauffés) et exposé à l'air: la fermentation est dans ce cas provoquée par des cellules ou des spores de ferments amenés par l'air ou adhérents aux vases contenant la liqueur; j'appellerai cette dernière espèce *fermentation accidentelle ou fortuite*.

---

## CHAPITRE II.

### DES FERMENTS TROUVÉS DANS LA BIÈRE ET PARTICULIÈREMENT DU SACCHAROMYCES CEREVISIÆ.

Le vin ne s'obtient qu'une fois par an, la bière se fabrique à toute époque de l'année. Il n'est donc point étonnant que la fermentation de la bière ait été étudiée depuis plus longtemps et avec plus de soin que celle du vin et qu'elle serve de type quand on veut exposer les phénomènes généraux de la fermentation alcoolique.

Sans entrer dans une description détaillée des procédés de fabrication de la bière, je suis cependant obligé de relater, en peu de mots, les principales manières d'obtenir le moût et de le soumettre à la fermentation; car ces procédés ont une grande influence sur la nature de la fermentation et sur les espèces ou variétés de ferments qui la produisent.

Il y a trois manières de faire fermenter le moût de bière; les deux premières sont les plus usitées, ce sont: la fermentation par haut et la fermentation par bas; la troisième méthode de fabrication, qui

n'est guère usitée qu'en Belgique, consiste à soumettre la bière à une fermentation *fortuite*.

La fabrication de la bière par le haut consiste : 1° dans la saccharification de l'amidon du malt par voie de trempes *d'infusion* successives et non par voie de trempes de décoction : 2° dans la fermentation du moût saccharifié et houblonné dans des tonneaux, à une température relativement élevée : dans ce cas la levûre, à mesure qu'elle se forme, sort par les trous de bonde à la partie *supérieure* du tonneau. De là le nom de fermentation *supère* ou *supérieure*. En Angleterre, cette fermentation se fait aussi dans de grandes cuves ouvertes : alors la levûre nage à la surface du liquide et on la recueille avec des écumoirs.

La fabrication de la bière par le bas consiste : 1° dans la saccharification de l'amidon du malt par voie de trempes de *décoction* (type de la fabrication bavaroise); 2° dans la fermentation du moût saccharifié et houblonné dans des cuves ouvertes, à une température beaucoup plus basse, ne devant point dépasser 12 à 14 degrés centigrades. Dans ce cas la levûre se dépose au fond des cuves et doit y rester adhérente, pâteuse et non liquide.

Dans ces deux procédés, on provoque la fermentation en mêlant au moût une proportion convenable de levûre provenant d'une fermentation antérieure mais de même nature.

En Belgique on ne provoque point la fermentation, on abandonne le moût à lui-même dans un local situé au-dessus du sol (et non à la cave) et on attend la fermentation *fortuite*. L'effervescence gazeuse ne commence qu'au bout de huit à dix jours.

Comme dans les fermentations provoquées, le ferment ajouté provient toujours d'une fermentation antérieure de même nature, le brasseur a tout intérêt à le recueillir; il *cultive*, pour ainsi dire, et récolte le ferment. Aussi les deux variétés de levûre de bière, *supère* et *infère*, sont-elles pour ainsi dire pures de mélange d'autres espèces, tandis que la levure des bières de Belgique est un composé de fer-

ments alcooliques de diverses espèces, mélange dépendant des formes apportées par l'air atmosphérique ou préexistantes dans le local où se fait la fermentation.

Lorsque la fermentation principale et tumultueuse est achevée, le liquide s'éclaircit par la séparation de la levûre, soit que celle-ci gagne le fond des ustensiles, soit qu'elle surnage. On décante alors le liquide pour l'entonner.

La bière n'est point complètement débarrassée de son ferment; un certain nombre de cellules y reste à l'état de suspension, et comme le liquide contient encore de la glucose non décomposée et des matières azotées en solution et pouvant servir à la nutrition des cellules, celles-ci continuent à végéter et par conséquent à produire de la fermentation. Cette seconde fermentation est lente et presque insensible; cependant si l'on enferme la bière dans des bouteilles ou des cruchons bien bouchés, cette fermentation lente continue, l'alcool augmente, l'acide carbonique produit ne pouvant s'échapper, se dissout dans le liquide et produit ainsi de la bière *mousseuse*. Cette bière est toujours malsaine, surtout si, pour la rendre plus mousseuse, on y a ajouté du sucre: elle est plus capiteuse que les autres espèces de bière, à cause de sa richesse en alcool et elle reste trouble à cause de la quantité de globules de ferment, nouvellement formés, qui y restent en suspension.

Examinons maintenant la levûre telle qu'on la recueille dans les brasseries après une bonne fermentation inférieure. Cette levûre se compose presque uniquement de cellules d'une seule espèce de ferment alcoolique, le *Saccharomyces cerevisiæ*. Les autres substances qu'on y rencontre sont peu nombreuses et en petite proportion, ce sont des granules de lupuline, des cristaux octaédriques d'oxalate de chaux, de spores, de moisissures, etc. Vue en masse, la levûre a une couleur blanc jaunâtre ou jaune ocracé, elle est en consistance de pâte épaisse et adhérente aux parois du vase qui la contient.

Le *Saccharomyces cerevisiæ* se compose de cellules rondes ou ovales,

ayant le plus souvent de 8 à 9 micromillim. (1) dans leur plus grand diamètre. Ces cellules sont formées d'une membrane mince mais élastique de cellulose fongique, non colorée, et d'un protoplasma incolore aussi, paraissant tantôt homogène, tantôt composé de petites granulations. Ce protoplasma renferme une ou deux vacuoles plus ou moins grandes qui contiennent du suc cellulaire. Les cellules sont tantôt isolées, tantôt réunies par deux.

J'ai déjà dit dans l'introduction que Cagniard-Latour a le premier reconnu la nature végétale de ces cellules et leur mode de bourgeonnement. Lorsqu'on dépose ces cellules dans un liquide fermentescible, on voit bientôt naître en un ou plus rarement en deux points à la fois de leur surface, des renflements vésiculeux dont l'intérieur se remplit aux dépens du protoplasma de la cellule mère. Ces renflements s'accroissent, finissent par atteindre presque la grandeur de la cellule mère, puis elles s'étranglent à la base. C'est ordinairement à l'extrémité la plus large de la cellule mère que naissent ces bourgeons : on en rencontre cependant parfois, surtout dans les fermentations lentes, qui prennent naissance sur les côtés ou à l'extrémité la plus étroite. Lorsque les nouvelles cellules ont à peu près atteint la grandeur de la cellule mère, elles s'en détachent ordinairement assez rapidement du moins dans la fermentation par le bas; il n'en est point de même dans la fermentation supère, où les conditions de végétation sont différentes.

La cellule mère a perdu pendant ce temps une partie de son protoplasma, qui est remplacé par une ou deux vacuoles. La cellule fille, détachée ou non, se nourrit alors aux dépens du liquide fermentescible dans lequel elle se trouve et produit à son tour de nouvelles cellules. La même cellule peut produire plusieurs générations de cellules lorsqu'elle se trouve dans des conditions de nutrition favorables, mais finalement elle perd presque tout son protoplasma, dont

---

(1) Le micromillimètre équivaut à un millième de millimètre, 0<sup>m</sup>,001.

le reste se réunit en granules nageant au milieu d'un suc cellulaire surabondant. La cellule cesse alors de se reproduire et même de vivre; un peu plus tard la membrane se rompt et le contenu granuleux se répand dans le liquide.

J'ai déjà indiqué dans l'introduction que tous les ferments, et en particulier le *Saccharomyces cerevisiæ* vivent aux dépens du liquide qu'il fait fermenter. Si certaines substances nécessaires à la nutrition manquent ou sont en trop petites proportions, la vitalité et même la grandeur et la forme des globules sont altérées. Mayer (Undersuchungen über alkoholische Gährung, p. 24), a montré que les cellules du ferment de la bière varient de grandeur suivant l'absence ou la présence et suivant les proportions des substances minérales qui se trouvent dissoutes dans le liquide fermentescible.

J'ai voulu constater quel effet produirait sur le ferment infère la quantité plus ou moins grande de substances azotées solubles contenues dans le liquide fermentescible; mais les malheureuses circonstances dans lesquelles nous nous trouvions à Strasbourg, ne m'ont point permis de faire ces expériences avec la précision nécessaire : Je manquais de balances assez sensibles pour peser exactement le ferment produit. Il résulte cependant de ces recherches que l'augmentation de substances azotées n'a point d'influence sur la forme des globules de ferment, mais qu'elle en a une très-grande sur la reproduction des cellules. Une quantité de décoction faite avec quatre fois plus de levûre de bière a produit un poids presque double de levûre fraîche. C'est une expérience à reprendre et à varier de différentes façons, mais dans des conditions de précision que je n'ai pu atteindre la première fois.

Lorsque le *Saccharomyces cerevisiæ* ne trouve point de liquide qu'il puisse faire fermenter, il peut rester, plus ou moins de temps, dans un état de vie latente. C'est sur cette particularité que sont fondés plusieurs modes de conservation de la levûre, entre autres celui de la levûre sèche. Mais, dès que le ferment se trouve de nouveau en

contact avec un liquide capable de fermenter, il recommence à bourgeonner et par conséquent à faire naître des échanges chimiques.

La température moyenne de la végétation du *Saccharomyces cerevisiæ* est comprise entre + 8° et + 35° centigrades. A 0° et même à + 3° il cesse de végéter; cependant Melsens lui a fait subir une température de — 90° sans le tuer. Lorsqu'il est humide, une température de + 75° coagule son protoplasma en une masse compacte et rend par conséquent ses cellules impropres à une nouvelle végétation.

La description que je viens de donner se rapporte au ferment infère, sain, et provenant d'une fermentation d'activité moyenne. Lorsque la chaleur dépasse plus de 14 degrés, la fermentation devient plus active, quoiqu'elle reste inférieure. Les cellules augmentent alors considérablement de volume, un grand nombre d'entre elles présentent la forme d'un ovale allongé dont le grand diamètre atteint jusqu'à 13 et 14 micromillimètres. La plupart d'entre elles présentent deux vacuoles circulaires, l'une grande, située vers le gros bout, l'autre plus petite, se trouve dans la partie rétrécie de la cellule.

Quelquefois la fermentation principale est entravée par des causes encore peu connues. La mousse qui, dans une fermentation convenable, recouvre tout le liquide et acquiert une épaisseur de quelques décimètres, reste, dans ces cas, peu abondante, n'atteint qu'une hauteur de quelques centimètres et est souvent disposée par flots qui laissent entre eux des espaces vides où la surface du liquide est à nu. Les brasseurs sont alors obligés de rejeter leur ferment et d'en employer un nouveau provenant d'une autre brasserie. J'ai eu l'occasion d'examiner une levûre produite par une fermentation de ce genre. Cette levûre, au lieu de présenter la couleur blanc jaunâtre ou gris jaunâtre d'une levûre saine, avait, au contraire, un aspect sale et d'une couleur brun foncé. En l'agitant avec de l'eau que l'on décantait ensuite, cette levûre s'écoulait en présentant des stries d'un brun noirâtre au milieu d'autres d'un brun plus clair. Examinée au

microscope, cette levûre ne diffèrait en rien, quant à la forme, d'une levûre saine. Le protoplasma, par contre, présentait dans un grand nombre de cellules, un aspect tout à fait différent de celui qu'il a habituellement. On voyait dans l'intérieur de ces cellules deux à quatre places plus claires, ressemblant à des vacuoles mal délimitées, autour desquelles se trouvaient de gros granules protoplasmiques, comme on en rencontre dans les cellules vieilles et prêtes à périr. Les cellules bourgeons, même lorsqu'elles étaient encore très-petites, présentaient fréquemment à leur intérieur une ou deux vacuoles circulaires (mais mal délimitées), comme les cellules qui ont déjà perdu une partie de leur protoplasma par le bourgeonnement. On voit que, dans les cellules de ce genre, le protoplasma a subi des altérations profondes dont la cause n'est malheureusement point encore connue.

J'ai pu aussi examiner à différentes reprises une variété infère du *Saccharomyces cerevisiæ*, employée par un boulanger de Strasbourg, pour faire des petits pains sucrés nommés *Zwieback*. Cette espèce de levûre provient d'une distillerie et vinaigrerie de *Lahr* (Grand-duché de Bade); de là le faux nom de *Essighefe* (ferment de vinaigre), sous lequel on la désigne. Dans cet établissement on fait fermenter diverses espèces de céréales concassées, pour en retirer un liquide légèrement alcoolique que l'on transforme plus tard en vinaigre. Le ferment, tel qu'il est vendu, se compose d'une très-grande quantité de granules d'amidon et de débris de grains altérés, d'une variété de *Saccharomyces cerevisiæ* et d'une assez forte proportion de ferment butyrique. Les cellules du *Saccharomyces cerevisiæ* sont presque toutes arrondies, très-grosses, ayant un diamètre de 10 ou 12 micromillimètres. Elles sont isolées ou gémminées comme le ferment infère type et offrent comme lui une ou deux vacuoles circulaires. Elles ne diffèrent donc du ferment type que par les dimensions.

Toute la description que je viens de faire se rapporte à la variété infère du *Saccharomyces cerevisiæ*.



J'ai déjà dit ailleurs que la fermentation infère, pour rester pure, ne doit point dépasser 14° centigrades. Dans les brasseries on la provoque ordinairement dans des caves à 8° ou 10°, mais les échanges chimiques qui se produisent, pendant l'acte de la fermentation, dans le liquide dégagent aussi 2° à 3° de chaleur, et le liquide se trouve ainsi à une température de 10° à 13°. Dans ce genre de fabrication la fermentation principale dure habituellement huit jours.

On opère la fermentation supère à une température de 15° à 18°, et comme cette fermentation est beaucoup plus rapide et plus tumultueuse que la fermentation infère, la chaleur, dégagée par les échanges chimiques est plus forte : elle est de 6° à 8°, en sorte que la température monte à 21° et jusqu'à 28° centigrades. La fermentation principale ne dure, dans cette manière d'opérer, que deux ou trois jours. La levûre est entraînée à la surface du liquide où elle surnage. Il y a cependant un certain nombre de cellules qui tombent au fond comme dans la fermentation infère.

Les cellules isolées et en repos des deux formes de ferment se ressemblent et, quoi qu'on puisse dire, que dans le ferment supère ce sont les formes ovales et agrandies qui dominant, tandis que, dans le ferment infère ce sont les formes arrondies et petites, on trouve cependant, dans les deux variétés de levûre, toutes les formes intermédiaires qui relient les formes extrêmes. J'ai déjà fait remarquer ailleurs que la chaleur produisait, même pour la fermentation infère, un agrandissement et un allongement des cellules du ferment.

Les cellules du *Saccharomyces cerevisiæ* supère commencent à bourgeonner très-activement, peu de temps après qu'on l'a semé dans le liquide fermentescible. Ce bourgeonnement est très-rapide, ainsi que l'indique du reste la rapidité de la fermentation. Cette végétation active est cause que les diverses cellules issues les unes des autres restent attachées entre elles, formant ainsi des chaînons moniliformes et ramifiés composés de six, douze et d'un plus grand nombre d'articles. Les bulles de gaz sont plus grosses dans la fermentation supère

que dans la fermentation infère; elles ont plus de prise sur une réunion nombreuse de cellules, sur un flocon que sur des cellules isolées ou géminées du ferment infère, elles les entraînent par conséquent à la surface où le ferment reste suspendu. Dans ces chaînons de la surface, les cellules ont habituellement une forme elliptique.

Quoique le mode de végétation de la levûre supère diffère, comme on vient de le voir, de celui de la levûre infère, ce fait seul ne peut autoriser à considérer ces deux levûres comme constituées par des espèces différentes, d'autant plus que l'on arrive, avec difficulté il est vrai et en changeant les conditions d'existence, à les transformer l'une dans l'autre. Dire que la levûre supère est constituée par des cellules jeunes, et la levûre infère par des cellules âgées, c'est méconnaître la nature de ces ferments.

Tant que le *Saccharomyces cerevisiæ*, supère ou infère, se trouve en contact avec un liquide fermentescible, il ne fait que reproduire de nouveaux bourgeons, et se renouveler par ces organes de propagation. Mais l'évolution totale de ce champignon ne se fait pas tout entière dans les moûts; il ne fructifie que lorsqu'il est soumis à d'autres influences dont j'ai déjà parlé dans l'introduction.

Lorsqu'on dépose le ferment, avec les précautions décrites plus haut, sur les blocs de plâtre, sa vie végétative cesse brusquement et l'on voit alors en peu d'heures des changements profonds s'opérer dans le protoplasma des cellules. Les cellules les plus vieilles et les moins riches en protoplasma périssent et tombent en détrit. D'autres cellules, au contraire, s'agrandissent, leurs lacunes disparaissent, et le protoplasma se disperse uniformément dans le suc cellulaire. Au bout de six à dix heures, on voit apparaître au milieu de ce protoplasma deux à quatre îlots plus brillants et plus denses, autour desquelles se rassemblent de fines granulations. Ces îlots denses n'offrent point l'apparence de nucléus et ils se différencient de plus en plus en devenant exactement sphériques. Douze à vingt-quatre heures plus tard, chacune de ces sphérules se revêt d'une membrane très-

fine, mais qui s'épaissit peu à peu et offre alors, à un grossissement de 600, un double contour. La spore est alors mûre. La cellule-mère contient ainsi de deux à quatre spores. Lorsqu'il n'y a que deux spores elles sont placées suivant le grand diamètre de la cellule-mère : lorsqu'il y a trois spores, elles sont ordinairement disposées en triangle ; lorsqu'il y en a quatre, elles sont disposées en croix ou bien trois d'entre elles forment un triangle auquel la quatrième est superposée en forme de tétraèdre.

Pendant leur évolution les spores se touchent ; il se produit par conséquent, au point de contact, une surface plane ; elles restent attachées entre elles pendant quelque temps après leur maturité et forment ainsi des dyades, des triades et des tétrades. Les deux spores des dyades n'ont qu'une face plane, celles des triades en offrent deux inclinées entre elles de 120 degrés, enfin les spores des tétrades disposées en croix ont aussi deux faces planes mais inclinées entre elles à angle droit. Lorsque les spores mûrissent, les thèques se moulent sur elles et prennent ainsi des formes diverses. La thèque des dyades est elliptique ; celles des triades sont triangulaires à angles arrondis, celles des tétrades en croix, offrent une forme lozangique à angles arrondis ; enfin celles des tétrades empilées sont tétradriques.

A la maturité complète la membrane de la *thèque*, c'est ainsi que l'on appelle la cellule-mère transformée en fruit, se déchire et laisse échapper les spores. Les *thèques* mûres mesurent de 10 à 15 micromillimètres, les spores ont un diamètre de 4 à 4,5 micromillimètres.

Pour étudier la germination des spores, il suffit d'en déposer quelques-unes dans un liquide fermentescible, au contact de l'air, sur le porte-objet du microscope. Il vaut mieux encore les examiner dans les godets allemands, décrits plus haut. Elles se gonflent alors bientôt : au bout de quinze à seize heures, l'une ou l'autre des ces spores produit sur un point de sa surface un mammelon ou bourgeon qui s'agrandit peu à peu aux dépens du protoplasma de la spore. Ce premier bourgeon (ou cellule de ferment) reste toujours plus petit que

les bourgeons qui naissent plus tard. Lorsque ce premier bourgeon est formé, la spore présente une vacuole. Quant à la nouvelle cellule, elle produit bientôt des bourgeons qui se détachent rapidement les uns des autres (ferment infère), ou qui restent unis entre eux, reformant ainsi les chaînons du ferment supère. Les cellules ainsi formées, après la première, atteignent les dimensions des cellules formées par voie de bougeonnement et ne diffèrent plus en rien des cellules types.

Jamais ni les cellules, ni les spores, quoique cultivées sur des substrats divers, n'ont manifesté la moindre tendance à produire des organes analogues à un mycelium. Il en de même du reste pour toutes les espèces de ferments que j'ai pu étudier.

Telle est l'histoire du développement complet du *Saccharomyces cerevisæ*. Rees en étudiant la production de cette espèce a pu observer à diverses reprises des thèques encore attachées à des cellules végétatives et en reconnaître ainsi la filiation. J'ai pu observer le même fait non-seulement pour le *Saccharomyce cerevisæ*, mais pour toutes les espèces que j'ai pu étudier. Du reste la quantité innombrable de thèques que l'on obtient par la méthode de fructification sur le plâtre ne laisse subsister aucun doute sur l'origine de ces organes.

J'ai déjà dit plus haut qu'en Belgique on faisait de la bière en abandonnant le moût à une fermentation fortuite. Cette fermentation est évidemment produite par des cellules ou des spores de ferments apportées par l'air ou se trouvant déjà précédemment dans le local ou dans les ustensiles servant à la fabrication. Aussi, dans ce cas, la levûre recueillie n'est point formée par une espèce unique : elle présente le plus souvent un mélange hétérogène. Rees en examinant du *pharo* en pleine fermentation, y découvrit, outre le *Saccharomyces cerevisæ*, les *Saccharomyces ellipsoïdicus*, *exiguus*, *Pastorianus* et le ferment *apiculé*, toutes espèces que l'on trouve dans les moûts de raisin ou des fruits.

Je n'ai rencontré dans les bières provenant de différentes brasse-

ries de Strasbourg que le *Saccharomyces cerevisiæ*; peut-être d'autres espèces y étaient-elles mélangées, mais en si petite proportion qu'elles ont pu échapper à mon attention. M. Gruber, brasseur très-distingué de Strasbourg, et qui étudie sa fabrication à un point de vue scientifique, m'a rendu attentif à une altération de sa bière, qui survient six à neuf mois après la mise en tonneau. Cette altération que M. Gruber appelle la *maladie verte*, consiste en une nouvelle fermentation qui rend la bière opaline et verdâtre: lorsque cette fermentation cesse, la bière s'éclaircit mais perd complètement sa saveur primitive pour prendre un goût vineux. En examinant la cause de cette altération j'ai trouvé dans ces bières une très-forte proportion de *Saccharomyces exiguus* auquel j'attribue cette fermentation secondaire.

Si dans les bières de Strasbourg le *Saccharomyces cerevisiæ* est presque l'unique composant de la levûre, il n'en est point de même pour les bières venant d'autres localités. Ainsi dans de la bière d'Obernai, pays de vignoble, j'ai trouvé non-seulement le ferment de la bière mais une très-forte proportion de *ferment apiculé*, dont l'origine n'est par conséquent point difficile à expliquer, puisque ce ferment est le plus abondant de ceux qui se rencontrent sur les raisins et sur les fruits d'Alsace.

### CHAPITRE III.

#### DU FERMENT DU PAIN. SACCHAROMYCES MINOR (nihil).

Les anciens chimistes admettaient une fermentation panaire spéciale, mais la chimie moderne a reconnu que la fermentation panaire et la fermentation alcoolique ne sont absolument qu'un seul et même phénomène. On conçoit dès lors que tous les ferments alcooliques énergiques peuvent servir à la panification et nous en voyons jour-

nellement la preuve. On sait par exemple que les anciens Romains préparaient leur levain au moyen de vin en pleine fermentation qu'ils mélangeaient à de la farine de millet pour en faire des boules qu'ils conservaient pour le besoin. Le ferment panaire des Romains était donc probablement composé en grande partie de *Saccharomyces ellipticus* et de ferment apiculé. En Allemagne et en Angleterre surtout, on se sert comme levain de diverses variétés de levûre de bière : levûre des distillateurs, levûre supère, levûre infère, levûre lavée et comprimée. Dans toute la France on n'emploie pour la panification ordinaire que le levain de pâte ; la levûre de bière ne sert qu'à la fabrication de pains de luxe.

Le procédé pour faire du pain levé, a été pratiquée en Orient dès la plus haute antiquité. Le pain a donc existé avant qu'on connût la bière et probablement avant qu'on sût que le vin en fermentation pouvait produire du levain. On peut donc supposer que le ferment panaire est différent des ferments de fruits et du ferment de la bière. Les boulangers qui emploient tour à tour le levain en pâte et la levûre de bière, savent que cette dernière a une action beaucoup plus énergique et plus rapide que le levain, nouvelle preuve que les deux ferments sont différents. Enfin l'on sait que l'on peut produire du levain sans ferment d'après le procédé de Dessables : ce procédé consiste à faire une pâte très-molle de farine et d'eau chaude et à l'exposer dans un endroit chaud ; quelquefois cette pâte fermente déjà au bout de douze heures. C'est probablement ainsi que l'on a découvert le pain levé.

Tous ces faits semblent démontrer que le levain est dû primitivement à une fermentation naturelle ; que le ferment préexiste dans la farine et par conséquent sur les grains de blé, absolument comme les ferments du raisin et des fruits se trouvent à la surface ou dans les fissures de ces derniers.

L'idée d'examiner le ferment du pain au point de vue morphologique n'est cependant venue jusqu'ici à personne, que je sache. Cet examen est assez difficile dans la pâte même, les globules de ferment

y sont en petit nombre mélangés à une innombrable quantité de grains de fécule de toutes les grosseurs. Pour ceux qui n'ont point l'habitude des formes, il leur suffira d'ajouter à une minime portion de levain déjà préalablement diluée dans une grande proportion d'eau, il suffira d'ajouter, dis-je, une gouttelette d'eau iodée : l'amidon se colorera en bleu et le protoplasma des globules de ferment en jaune : on parviendra ainsi à distinguer très-facilement ces derniers.

Lorsqu'on veut recueillir une certaine quantité de ce ferment pour le soumettre à des expériences, on malaxe le levain sous un filet d'eau pour en extraire le gluten et on recueille le liquide qui s'écoule. Ce liquide tient en suspension de l'amidon, des fragments de son et le ferment. L'amidon étant plus pesant que le ferment se précipite d'abord, on décante et l'on répète plusieurs fois l'opération.

On obtient ainsi une grande proportion de ferment, mélangé encore il est vrai d'un certain nombre de très-petits granules d'amidon et de quelques fragments de son.

Ces lavages successifs à l'eau pure ont un inconvénient, c'est celui d'interrompre plus ou moins longtemps la fermentation et de rendre ainsi le ferment moins actif, comme cela arrive du reste aussi au ferment de bière lavé. J'ai donc de préférence employé de l'eau sucrée pour faire ces manipulations et le ferment se trouvait ainsi dans des conditions favorables pour son développement ultérieur :

Examiné au microscope, ce ferment se présente sous forme de globules isolés, géminés ou quelquefois réunis à trois. Peut-être les diverses opérations qu'on a fait subir au levain sont-elles cause de cette apparence, car nous verrons tout à l'heure que dans un milieu différent on rencontre des chaînettes simples ou ramifiées composées d'un assez grand nombre d'articulations. J'ai déjà dit que ces globules sont sphériques, les bourgeons les plus jeunes, encore attachés à la cellule mère, présentent quelquefois une forme ovoïde mais qui est bientôt remplacée par la forme typique.

Les plus gros de ces globules ont 6 micromillimètres de diamètre,

tandis que ceux des *Saccharomyces cerevisiæ* en ont 8 à 9 et dans certaines circonstances même 13 et 14. Ces globules ont des vacuoles, mais beaucoup moins apparentes que celles du ferment de la bière, La forme sphérique et les dimensions du ferment panaire les distinguent suffisamment des autres espèces du genre.

Le ferment du pain n'est-il qu'une forme mineure du ferment de la bière due au milieu dans lequel il végète? Ses dimensions restent-elles plus petites parce qu'il ne peut s'étendre et grossir au milieu de la matière visqueuse dans laquelle il se développe? ou bien ce ferment forme-t-il véritablement une espèce nouvelle? Telles sont les questions qui surgissent naturellement dans l'esprit de l'observateur.

Pour les élucider il fallait faire vivre le ferment dans un milieu liquide et dans les mêmes conditions de nutrition que le ferment de bière. Je préparai donc une solution de glucose dans de l'eau de levûre, d'après la formule donnée par Pasteur, et j'y semai une certaine proportion de ferment panaire aussi pure que possible. La température de la chambre dans laquelle j'opérais variait alors (mai) entre 15° et 18° centigrade. La fermentation s'établit, mais elle était lente et pénible et le *Saccharomyces Mycoderma* vint bientôt envahir la surface du liquide. Je recommençai l'expérience et la seconde fois, quoique la fermentation ne fût guère plus active, le mycoderme n'apparut point. Je recueillis le ferment obtenu et je le soumis à une nouvelle opération. Je renouvelai ainsi sept fois l'expérience, me servant chaque fois du ferment obtenu dans l'opération précédente. Pendant ce temps la température de la chambre s'était élevée peu à peu, en sorte que la dernière fermentation s'était faite entre 26° et 28°. Toutes ces expériences n'avaient pas produit la moindre altération ni dans la forme, ni dans les dimensions des globules. Les fermentations avaient peu à peu augmenté d'intensité, sans doute en raison de l'augmentation des globules de ferment et de la chaleur de la saison; mais jamais elles n'avaient atteint la rapidité d'une ferment-



tation produite par la levûre de bière en proportion, égale dans un liquide de même volume et de même composition. Il est donc évident que, toutes choses égales d'ailleurs, le ferment du pain est beaucoup moins actif que la levure de bière.

Les phénomènes de la fermentation étaient exactement les mêmes que ceux que l'on observe dans une fermentation obtenue par la levure de bière inférieure. Au bout de quelques heures (plus ou moins selon la température), on voyait s'élever du fond du vase de petites bulles de gaz peu nombreuses d'abord, puis de plus en plus multipliées : au bout de 48 heures environ, la fermentation était dans toute son activité. Les bulles de gaz entraînaient avec elles des flocons de ferment que l'on voyait alors retomber au fond du vase. Même à + 26°, je n'ai jamais pu observer à la surface du liquide la moindre trace de levûre supère ; sept fermentations successives à des degrés de température favorables à la fermentation supère, n'ont point altéré le rôle des globules : le ferment du pain est donc essentiellement une levûre de fond.

L'examen microscopique ne laissait apercevoir aucune différence entre le ferment retiré du levain et celui qui avait été recueilli après une fermentation dans le liquide. Les globules étaient restés sphériques et les plus gros ne mesuraient que 6 micromillimètres. Cependant le ferment retiré avec précaution du moût se présentait en chaînons moniliformes, rectilignes ou ramifiés, composés de 6 à 12 cellules et plus. Les plus gros globules, ceux dont les autres étaient issus, s'éclaircissaient à leur centre, mais sans offrir cette vacuole si nettement délimitée que l'on rencontre dans le *Saccharomyces cerevisiæ*.

La plus grosse cellule, celle qui mesure 6 micromillimètres forme le point de départ de la chaînette. Lorsqu'elle ne produit qu'une seule cellule, la chaînette reste linéaire ; lorsqu'elle en produit deux, elle forme une chaînette bifurquée ; rarement j'ai vu une ramification plus compliquée. Les cellules successivement issues les unes des autres restent toujours plus petites que celles qui leur ont donné

naissance ; en sorte qu'à l'extrémité d'une ramification, la dernière cellule ne mesure plus que 4 ou même 3 micromillimètres. J'ai toujours constaté le même fait tant que les cellules restaient unies entre elles.

En faisant végéter le ferment panaire dans une solution fermentescible, sur le porte objet du microscope, on constate que le bourgeonnement de cette espèce s'effectue de la même manière que chez le ferment de la bière ; je ne m'arrêterai donc pas à en donner la description.

Ainsi, analogie complète entre les deux ferments au point de vue de la vie végétative, mais différence marquée quant à la forme, aux dimensions et à l'aspect du contenu.

Tous ces faits semblent prouver que le ferment du pain est une espèce bien déterminée ; ils ne suffisent cependant point pour la caractériser complètement. Il fallait encore examiner les organes de reproduction, les thèques et les spores.

Le ferment panaire déposé sur les blocs de plâtre se mit de suite au repos végétatif. Quelques cellules s'agrandirent légèrement, acquérant une grosseur de 7 micromillimètres, mais sans changer leur forme sphérique ; d'autres, moins nombreuses, prirent une forme elliptique à grand diamètre de 9 micromillimètres. La formation des spores eut lieu sur le même type que chez le *Saccharomices cerevisiæ*. Le plus grand nombre de thèques contiennent des dyades ; les cellules elliptiques, dont je viens de parler, contenaient trois spores à la file les unes des autres ; d'autres contenaient des triades régulières, c'est-à-dire disposées en triangle ; enfin, les tétrades étaient très-rares, comme c'est du reste le cas pour le ferment de la bière.

Les spores du ferment panaire n'ont que trois micromillimètres au plus de diamètre. Les thèques sont le plus souvent isolées, cependant il m'est arrivé, à différentes reprises, d'en voir qui étaient encore accollées à des cellules végétatives. Du reste, la sporulation du ferment panaire se fait avec une rapidité et une abondance extra-

ordinaire par la méthode indiquée; au bout de 48 heures déjà, on a une infinité de thèques remplies de spores déjà mûres.

Le mode de germination de ces spores est tout à fait analogue à celui des spores du ferment de la bière.

De tout ce qui précède, il résulte que le ferment du pain constitue véritablement une espèce bien caractérisée et bien distincte. Sa grandeur, sa forme, l'aspect de son contenu, la constance de ses formes dans des milieux divers, la grandeur de ses thèques et de ses spores, tout démontre que le ferment panaire n'est point une variété du ferment de la bière, mais bien une espèce distincte. Sa forme seule suffit aussi pour le distinguer de toutes les espèces de *Saccharomyces* dont il sera question plus tard.

J'avais songé d'abord à donner à ce ferment le nom de *Saccharomyces panis*; mais considérant que cette forme pouvait se rencontrer dans la nature sur d'autres objets que les céréales, j'ai préféré lui donner un nom qui ne préjuge rien. Le nom de *Saccharomyces minor* me paraît le plus convenable: il signifie seulement que le saccharomyces est plus petit que son congénère de la bière.

---

## CHAPITRE IV.

### FERMENTS DES FRUITS APPARTENANT AU GENRE SACCHAROMYCES.

#### § 1<sup>er</sup>. Généralités.

On a longtemps prétendu et l'on soutient encore maintenant que la fermentation alcoolique n'existe point dans la nature. J'ai fait remarquer déjà que l'on n'est jamais parvenu à faire dériver les ferments des moisissures, ou de produire des moisissures par des ferments, mais qu'on trouve toujours ces derniers constitués comme ferments, c'est-à-dire, comme cellules plus ou moins isolées ou réu-

nies en chaînettes, et jouissant d'une vitalité propre. On rencontre ainsi un certain nombre d'espèces de ferments ou leurs spores à la surface des fruits. Tant que ces ferments restent ainsi déposés sur l'épiderme (ou épicarpe) du fruit non altéré, ils restent dans un état de vie latente; ils ne s'accroissent point et ne se multiplient point par bourgeonnement. Mais dès que l'épiderme s'éraïlle ou se fissure par un accident quelconque, ou que le fruit trop mûr commence à se détacher de son pédicule, les cellules de ferment peuvent se trouver en contact avec le suc du fruit qui contient tous les principes nécessaires à la vie, à l'accroissement et à la multiplication par bourgeonnement de ces cellules. C'est ce qui se produit alors en effet : les cellules se nourrissent, respirent et se produisent par bourgeonnement. On n'a qu'à enlever une petite portion du suc ou du tissu d'un fruit à un endroit fissuré et à les examiner au microscope, pour s'assurer que les cellules de ferment présentent de nouveaux bourgeons à tous les états de développement.

On ne peut admettre que, la plante se développant ainsi dans un suc fermentescible, ce suc ne soit point altéré lui-même; c'est-à-dire, qu'il n'entre en fermentation alcoolique. Ce qui a empêché de reconnaître cette fermentation c'est, qu'on ne permette cette expression, *la petitesse des ateliers* où elle s'exécute, les fruits et même souvent des surfaces très-réduites de ces fruits. En outre, l'alcool y est produit en très-petites proportions, il peut s'évaporer facilement, la saveur du fruit peut être altérée par le développement d'autres plantes, surtout de Saprophytes, d'autres phénomènes tels que la pourriture, par exemple, se produisent quelquefois en même temps que la fermentation, et toutes ces circonstances ont probablement empêché de constater la présence d'un liquide alcoolisé.

Je citerai cependant un fait qui me paraît prouver jusqu'à l'évidence la formation de l'alcool dans la nature. Le sarcocarpe à tissu lâche de certains fruits, paraît se laisser traverser facilement par les cellules-bourgeons des ferments. On rencontre, en effet, fréquem-

ment des ferments dans l'intérieur des fruits : mais ces fruits présentent toujours une solution de continuité qui est le point de départ du bourgeonnement des ferments. C'est surtout sur les cerises de Montmorency qu'on peut le mieux observer ce fait, car il est accompagné de certains phénomènes visibles à l'œil nu et appréciables au goût. Les cerises de Montmorency, surtout celles qui sont peu colorées et avancées en maturité, changent de couleur et d'aspect : l'épiderme ou épicarpe devient diaphane par places et laisse paraître sous lui le tissu sarcocarpique, avec ses faisceaux vasculaires : ces places paraissent décolorées et jaunâtres à l'extérieur, comme si une couche d'air était interposée entre l'épicarpe et le sarcocarpe. Nul doute que cet effet ne dépende d'une couche d'acide carbonique, développée pendant la fermentation et emprisonnée par l'épicarpe. En même temps la saveur du fruit change complètement et devient vineuse, ce qui tient probablement à la transformation d'une partie du sucre en alcool. J'avoue qu'ici la preuve expérimentale me manque ; mais je suis persuadé qu'un chimiste qui voudra s'occuper de la question, pourra facilement démontrer la présence de l'alcool dans le jus des cerises qui présentent les altérations décrites.

Je crois donc que la fermentation du moût des fruits dans la cave, n'est que la continuation de la fermentation déjà commencée dans quelques fruits isolés, car tous ne sont point altérés. Si la fermentation ne semble s'établir que quelque temps après l'extraction du moût, cela tient évidemment à la période de fermentation imperceptible dont j'ai parlé dans l'introduction, et pendant laquelle le gaz acide carbonique est absorbé par le jus non encore saturé.

J'ai dû porter aussi mon attention sur le rôle que jouent les diverses espèces de ferments dans les phénomènes de la fermentation, d'autant plus que Rees avait admis que certaines espèces produisaient la fermentation primaire et tumultueuse, tandis que d'autres présidaient à la fermentation secondaire. Les nombreuses fermentations que j'ai observées, m'ont donné la preuve que la manière de

voir de Rees est erronée. Cet observateur n'a examiné que diverses espèces de vins, et il est possible que les vins qu'il a observés aient subi la fermentation principale sous l'influence de certaines espèces et que d'autres espèces se soient trouvées en majorité dans la fermentation secondaire. Mais lorsqu'on examine un grand nombre de fermentations et des moûts de fruits divers, le rôle des ferments ne paraît plus du tout le même. Rees dit que le *Saccharomyces Pastorianus* est un ferment qui produit la fermentation secondaire : j'ai observé, au contraire, une fermentation primitive de moût de poires (var. *Colmar d'été*), presque exclusivement produite par le même ferment. C'est la grosseur extraordinaire des bulles dégagées au début de la fermentation qui appela surtout mon attention et me fit rechercher, dès le commencement, quel pouvait être le ferment en activité.

J'ai encore rencontré une fermentation primaire provoquée presque exclusivement par le *Saccharomyces exiguus*. On a, en Alsace, une méthode particulière de confire les cerises aigres : cette méthode consiste à mettre dans un baril ou dans un bocal des couches alternatives de sucre en poudre et de cerises, en commençant et en terminant par une couche de sucre. L'épiderme des cerises crève en certains endroits et laisse échapper une partie de leur suc qui humecte et dissout peu à peu le sucre : en même temps les ferments adhérents aux fruits, entrent en action et font fermenter le moût sucré qui devient ainsi alcoolique et pénètre les cerises qui y sont plongées. Les cerises conservées ainsi sont nommées cerises au tonnelet ou au baril (Fæssel-Kirschen). A deux reprises différentes, j'ai rencontré dans des fermentations de ce genre, le *Saccharomyces exiguus* presque sans mélange, quoique les fruits présentassent divers autres ferments et surtout le *Saccharomyces ellipticus* et le ferment *apiculé*. Ne doit-on pas admettre que, dans ce cas, la composition du moût était plus favorable au développement d'une espèce de ferment, et que les autres ont alors végété avec moins de rapidité, ou ont même

complètement cessé de vivre : mais toutes ces questions sont encore à l'état de supposition, et ne pourront être résolues définitivement que lorsqu'on sera parvenu à obtenir chaque espèce à l'état d'isolement complet et sans mélange d'autres espèces. On verra dans le paragraphe suivant, que l'on rencontre toutes les espèces de ferments que j'énumérerai dans ce chapitre, sur les fruits les plus variés, et il n'y a rien d'étonnant à ce fait puisque l'air transporte d'immenses quantités de spores ou de cellules de ferments d'espèces les plus diverses. Il n'arrive cependant point nécessairement que chaque fruit en particulier soit infecté par toutes les espèces à la fois ; il pourrait se faire que tel fruit isolé d'un même arbre, ne présente qu'une seule espèce de ferment, tandis qu'un autre en porte d'une seule ou de plusieurs espèces différentes. Dans le moût qui est produit par le jus d'un grand nombre de fruits, les espèces de ferment sont nécessairement mélangés. Je suis persuadé que l'on obtiendra les espèces isolées, en écrasant un seul fruit, par exemple une baie de groseille ou une cerise dans un des moûts factices dont Pasteur a donné les recettes. Je n'ai pu entreprendre ces expériences l'année dernière, elles auraient exigé trop de temps et un matériel que je ne pouvais me procurer. Je pense pouvoir m'en occuper de nouveau plus tard... et en France.

§ 2°. *Ferments rencontrés sur diverses espèces de fruits.*

Les fruits que j'ai examinés se montent au nombre de 23, tant espèces que variétés. Je les mentionnerai dans l'ordre de leur apparition.

Quant aux ferments, j'ai toujours examiné d'abord les matières enlevées par le grattage, à la surface des péricarpes, puis une partie de la pulpe des fruits enlevée aux endroits fissurés, enfin le moût lui-même et surtout son dépôt. Les espèces de ferments trouvées sur chaque fruit seront mentionnées d'après leur ordre de fréquence, le plus abondant en tête, le moins abondant en dernier lieu.

CERISES, en quatre variétés : Guignes jaunâtres; Bigarreux noirs; Griottes noires et rouges. Toutes ces variétés ont présenté les mêmes ferments : *Ferment apiculé* : *Saccharomyces ellipticus*, *S. exiguus*. J'ai déjà fait remarquer que, dans deux cas de fermentation spéciale, l'*exiguus* avait la prépondérance.

GROSEILLES A GRAPPES, rouges et blanches : *Ferment apiculé* ; *Saccharycus ellipticus* ; vers la fin de la fermentation *Sacch. Pastorianus*.

GROSEILLES A MAQUEREAU. *Ferment apiculé* ; *Sacch. ellipticus*, *Pastorianus*, ce dernier peu abondant. J'ai rencontré encore dans un moût de maquereaux, un ferment sphérique ressemblant par conséquent au *minor* du pain, mais plus gros et mesurant 8 micromillimètres. Ce ferment ne présentait jamais que deux cellules, une cellule mère et un bourgeon. Il était trop peu abondant pour pouvoir être examiné à ses différentes phases de développement, et je ne puis par conséquent, certifier que ce soit une espèce distincte.

FRAISES. *Ferment apiculé* ; *Sacch. ellipticus* et *exiguus*.

FRAMBOISES. *Ferment apiculé* ; *Sacch. ellipticus*, *Pastorianus*, *exiguus*.

PRUNES. Deux variétés : *Ferment apiculé* ; *Sacch. ellipticus*, *exiguus*.

ABRICOTS. *Ferment apiculé* ; *Sacch. ellipticus*, *Pastorianus*, *exiguus*.

PÊCHES. *Ferment apiculé* ; *Sacch. ellipticus*, *Pastorianus*.

MYRTILLES. *Ferment apiculé* ; *Sacch. ellipticus*.

MURES. *Ferment apiculé* ; *Sacch. ellipticus*.

RAISINS. Deux variétés : *Chasselas blanc* et *Pinot noir*. Dans le *Pinot* le *ferment apiculé* était plus abondant que le *Sacch. ellipticus* : c'était le contraire dans le *Chasselas* : *Sacch. Pastorianus* : vers la fin de la fermentation *Sacch. conglomeratus*.

RONCES. *Ferment opiculé* ; *Sacch. ellipticus*, *exiguus*.

POIRES. Cuisse madame. *Sacch. ellipticus*, *ferment apiculé*, *Sacch. Pastorianus*.

POMMES reinettes. *Sacch. ellipticus*, *Ferment apiculé*.

J'ai déjà fait remarquer que le *Saccharomyces Pastorianus* s'était  
1872. — Engel.



rencontré presque exclusivement dans un moût de poires (Colmar d'été).

On voit par le tableau ci-dessus que, quelle que soit l'espèce de fruits, les ferments sont toujours à peu près les mêmes et dans le même ordre d'abondance à peu près. Je crois que lorsque l'un ou l'autre de ces ferments vient à prédominer, cela tient simplement à des circonstances locales et que, dans des endroits différents, l'ordre de fréquence peut être complètement renversé. Remarquez aussi qu'il n'y a aucune différence entre les ferments des fruits à pépins et des fruits à noyaux ou des baies, ce qui me semble être une preuve de plus que les ferments y ont été déposés par l'air qui les transporte.

Je n'ai point compris dans l'énumération précédente le *Saccharomyces Mycoderma* : on le rencontre sur la plupart des fruits, mais comme son rôle de ferment alcoolique est encore un objet de litige ; je préfère lui consacrer un chapitre particulier. Au point de vue morphologique, il possède tous les caractères génériques des vrais ferments alcooliques du genre *Saccharomyces*.

### § 3. *Morphologie des ferments du genre Saccharomyces trouvés sur les fruits ou dans leurs moûts.*

Le *ferment apiculé* serait le premier dont j'aurais à m'occuper, d'après l'ordre de fréquence, si mes recherches n'avaient point eu pour résultat de démontrer que ce ferment n'appartient point au genre *Saccharomyces*, mais qu'il constitue le type d'un genre nouveau ; je lui consacrerai par conséquent un chapitre spécial.

Tous les autres ferments trouvés sur les fruits appartiennent au genre *Saccharomyces*. Ils sont au nombre de quatre espèces :

1° *Saccharomyces ellipsoideus* (Rees). Ce ferment le plus fréquent après le ferment apiculé est le *ferment alcoolique ordinaire du vin* de Pasteur (Etudes sur le vin, fig. 8, 9, 11) mais non le *Cryptococcus*,

*vini* de Kützing. Les cellules végétatives qui composent ce ferment ont, comme leur nom l'indique, une forme ellipsoïdale; à l'état adulte elles ont ordinairement 6 micromillimètres de longueur sur 4 à 4,5 de largeur; leur intérieur contient habituellement une vacuole ovale. Au reste, sauf les différences constantes de forme et de grandeur, leur structure est complètement analogue à celle des cellules du *Saccharomyces cerevisiæ*.

Dans un liquide fermentescible les cellules du *S. ellipsoideus* se mettent aussitôt à végéter et à bourgeonner. Les bourgeons naissent ordinairement isolés aux extrémités de la cellule mère, rarement sur ses côtés. Lorsque la température à laquelle se fait la fermentation reste basse, les bourgeons se séparent facilement de la cellule mère et l'on ne rencontre guère que deux cellules unies entre elles. Lorsque la température dépasse 16 degrés, la fermentation devient plus active et le ferment devient, comme celui de la bière, un ferment supère, formant des flocons arborisés composés de 6 à 12 et même 15 cellules.

Exposés dans les conditions précédemment indiquées sur les blocs de plâtre, les cellules du *Saccharomyces ellipsoideus* sporulent avec abondance et l'on obtient au bout de 48 heures déjà un grand nombre de thèques remplies de spores mûres. Les phénomènes de la sporulation sont tout à fait identiques à ceux du *S. cerevisiæ*. Les thèques sont d'abord elliptiques, plus tard elles prennent les formes exigées par la disposition des spores. Le plus grand nombre des thèques renferment des dyades; les triades et les tétrades sont plus rares: la disposition de ces spores est la même que pour le ferment de la bière. Dans un milieu fermentescible, la germination s'exécute aussi de la même façon que celle du *S. cerevisiæ* et comme tous ces phénomènes présentent la même analogie pour tous les ferments de fruits, je n'en parlerai plus.

2° *S. Pastorianus*. Ainsi dénommé par *Rees*, ce ferment que Pasteur considérait comme une variété de son ferment alcoolique du vin

(et qu'il représente sur la fig. 7 de son ouvrage sur le vin), constitue une espèce bien caractérisée. La forme de ses cellules varie dans certaines limites : elles sont ovales, pyriformes ou allongées en massue. Les cellules ovales ressemblent beaucoup à celles du *S. cerevisiæ*, elles ont ordinairement 6 micromillimètres de longueur et restent rattachées entre elles au nombre de deux à trois. Les cellules en massue que l'on voit ordinairement sortir sous forme de bourgeons de cellules ovoïdes ou pyriformes, atteignent 18 à 20 micromillimètres de longueur sur 8 à 10 de largeur au gros bout. Les cellules en massue sont ordinairement réunies en flocons composés de 3 à 7 articulations : elles poussent souvent, surtout à leur extrémité renflée plus rarement sur les côtés, des bourgeons secondaires ovales ou presque sphériques, mais qui restent petites.

*Rees* prétend que les bourgeons secondaires sont les seuls qui fructifient et que les bourgeons en massue périssent. Je suis arrivé à un résultat opposé. Les bourgeons secondaires fructifient il est vrai, mais les grands bourgeons ont fructifié tout aussi souvent et m'ont présenté un caractère très-singulier. Cette fructification, comme les précédentes, s'exécute au bout de deux jours. Les cellules courtes (secondaires) ne contiennent que deux spores disposées en dyade : les cellules en massue en renferment trois ou quatre ; mais par une disposition singulière, elles ne forment jamais ni triades ni tétrades. Lorsque la cellule en massue ne contient que trois spores, deux de ces spores, celles qui sont situées dans la grosse extrémité, sont réunies en dyade, et séparées de la spore isolée par un amas de protoplasma non employé : lorsqu'au contraire la cellule renferme quatre spores, elles sont réunies deux par deux, en dyades, et séparées de même par du protoplasma. Dans ce dernier cas la thèque présente deux renflements aux extrémités et un rétrécissement au milieu.

Je ne suis point non plus d'accord avec *Rees* sur les dimensions des spores de ce ferment auxquelles il n'attribue que 2 micromilli-

mètres de diamètre. Ces spores sont au contraire les plus grosses de toutes les spores du genre : elles mesurent 6 micromillimètres de diamètre et égalent par conséquent les plus grandes cellules du *S. minor*. L'erreur de *Rees*, provient probablement de ce que ses spores étaient limitées par deux divisions du micromètre, comme cela avait lieu dans mes recherches, et il aura négligé de convertir ce résultat en mesures micrométriques.

3° *S. exiguus* (*Rees*). Cette espèce est très-petite : les cellules adultes n'ont qu'environ 5 micromillimètres de longueur, sur 2,5 de largeur à leur gros bout. Elles ont une forme turbinée; elles produisent habituellement un ou deux bourgeons à leur gros bout et se ramifient ainsi, mais sans former jamais de flocons à articulations multiples; rarement il y en a plus de six.

Les thèques de cette espèce se forment comme celles des espèces précédentes et elles contiennent le même nombre de spores et le même agencement de ces organes que le *S. cerevisiæ*.

4° *S. conglomeratus* (*Rees*). Cette espèce paraît être assez rare; je ne l'ai rencontrée que deux fois dans des moûts de raisin vers la fin de la fermentation. Les cellules sont sphéroïdales, de 6 micromillimètres de diamètre lorsqu'elles sont adultes. Lorsque la première cellule a bourgeonné, ce bourgeon atteint la grandeur de la cellule mère, mais ne s'en détache point, et il naît d'abord dans l'aisselle des deux cellules, puis sur différents points de leur surface, un assez grand nombre de nouvelles cellules, qui ne forment pas, par conséquent, de chaînette ou de flocons, mais un véritable conglomérat. Plus tard seulement, les cellules primitives émettent aussi des bourgeons terminaux, c'est-à-dire dirigés suivant leur grand axe.

Dans cette espèce, deux ou plusieurs cellules végétatives encore réunies entre elles se transforment en même temps en thèques, ce qui est exceptionnel chez les autres espèces. Les thèques sont rondes, ovales ou légèrement allongées et sécuriformes. Les spores forment comme celles de *Sacch. cerevisiæ* des dyades, des triades ou des

tétrades. Très-souvent, cependant, trois ou quatre spores sont rangées en file rectiligne. Les spores mesurent habituellement 2,5 à 3 micromillimètres.

La germination suit les mêmes phases que celle des espèces précédentes.

---

## CHAPITRE V.

### DU SACCHAROMYCES MYCODERMA OU FLEURS DE VIN.

Le *Saccharomyces mycoderma* (fleurs de vin, fleurs de la bière), se présente à la surface de tous les liquides alcooliques exposés à l'air, lorsque la fermentation est achevée ou qu'elle est languissante. Sa croissance se fait avec une extraordinaire rapidité. Lorsqu'on en dépose quelques cellules sur un liquide à alcoolisation faible, le bourgeonnement se fait en si peu de temps qu'une surface très-considérable se trouve recouverte, au bout de trente-six à quarante-huit heures, d'une pellicule mince, blanchâtre ou jaunâtre du mycoderme. Cette pellicule présente d'abord une surface lisse, les cellules adhérant toutes à la surface du liquide sur le niveau duquel elles se moulent pour ainsi dire. Bientôt le nombre des cellules augmente, les cellules nouvelles refoulent les anciennes qui se soulèvent et donnent à la pellicule un aspect ridé.

La rapidité de sa croissance, la facilité avec laquelle il envahit presque toutes les fermentations et fréquemment les cultures, font de ce mycoderme un être des plus importants pour l'observateur qui veut étudier les ferments. Heureusement ses formes, quoique multiples, sont faciles à reconnaître, et les cellules sporulées ou thèques sont très-différentes de celles des autres espèces du genre.

Les cellules qui composent le mycoderme ont des formes multiples, il y en a d'ovoïdes, d'elliptiques ou de cylindriques à extrémités arrondies. Leurs dimensions varient aussi entre de grandes limites. Les

cellules ovoïdes ont le grand diamètre de 6 micromillimètres et le petit de 4 environ : les cylindriques ont un grand diamètre de 12 à 13 micromillimètres, et le petit ordinairement de 3. Entre ces limites il y a des passages graduels.

Les cellules du mycoderme sont constituées comme celles des autres espèces du genre, mais ordinairement elles sont pauvres en protoplasma. Elles présentent dans leur intérieur un à trois petits points brillants (matière grasse) qui les font immédiatement reconnaître. Les cellules ovoïdes n'en présentent qu'un, ordinairement situé à l'extrémité rétrécie de la cellule : les moyennes en présentent deux placés aux deux extrémités, enfin les cellules cylindriques les plus allongées en présentent trois, deux aux extrémités et le troisième au centre.

Ces cellules produisent des bourgeons à leur extrémité. Ordinairement elles n'en produisent qu'un à chaque bout ; souvent cependant elles en produisent deux à l'une des extrémités. Elles forment ainsi des chaînettes ou des flocons ramifiés et entrelacés de façon à donner à l'ensemble l'aspect d'une fine membrane.

Les cellules vieilles et qui sont en repos présentent dans leur intérieur une ou plusieurs vacuoles circulaires, comme on en rencontre dans les autres ferments ; les cellules courtes et épaisses n'en présentent qu'une, les cellules cylindriques en présentent ordinairement deux ou trois, rarement un plus grand nombre.

Lorsqu'on étend le liquide alcoolique, sur lequel végète le mycoderme, d'une forte proportion d'eau, les cellules du végétal subissent des modifications considérables. Les unes, les plus vieilles probablement, s'altèrent et meurent en laissant échapper leur protoplasma ; d'autres, au contraire, s'allongent de façon à acquérir 16 à 20 micromillimètres. Ordinairement ces cellules ne s'élargissent point. Bientôt leur protoplasma se rassemble en divers points pour donner naissance à des spores. Ces spores sont ordinairement au nombre de trois à quatre rangées en file longitudinale dans la cel-

lule. On rencontre souvent trois de ces spores nées dans une cellule un peu plus large à l'une de ses extrémités qu'à l'autre ; la grosseur des spores diminue alors graduellement de la première à la troisième. Les spores ont ordinairement 3 micromillimètres de diamètre.

J'ai déjà parlé plus haut de la rapidité avec laquelle se produisent les cellules du mycoderme, et j'ai voulu me rendre compte approximativement, par le calcul, de cette prodigieuse activité végétative! Je déposai, avec la pointe d'un canif, à la surface d'un vin blanc faible, un fragment de pellicule de mycoderme à peine assez grand pour recouvrir un millimètre carré. En supposant que ce millimètre eût été exactement recouvert, comme chaque millimètre contient un million de micromillimètres carrés; il eût fallu 27,777 cellules du mycoderme, évaluées chacune à 36 micromillimètres carrés (ce sont les plus grandes). La surface du liquide était exactement circulaire et d'un diamètre de 15 centimètres: la surface totale était donc de 353,418,750,00 de micromillimètres carrés. Pour recouvrir une telle surface d'une couche unique des plus grandes cellules du mycoderme il en faudrait 981,718,750. Or, la surface entière avait été recouverte dans l'espace de quarante-huit heures. Chacune de 27,777 cellules supposées avoir été déposées sur le liquide avait donc produit dans ce court espace de temps une progéniture de 35,378 cellules.

Cette rapidité de bourgeonnement, la facilité avec laquelle le mycoderme envahit les liquides dont la fermentation s'est arrêtée ou languit, son siège spécial à la surface des liquides et au contact de l'air, ont fait inventer une foule de théories pour expliquer son origine. Les botanistes transformistes de l'école de Hoffmann ou de Bail avaient beau jeu: le mycoderme était une forme aérienne du ferment alcoolique ordinaire. Il faudrait donc que la surface des liquides qui se couvre de mousse renfermant des cellules de ferment soit envahie immédiatement de mycoderme. Or, on sait parfaitement que cela n'a point toujours lieu. Du reste, les liquides alcooliques envahis

ont des ferments de nature différente; le vin, la bière, une fermentation obtenue par le *Saccharomyces minor* se recouvrent également de mycoderme, et l'on ne peut certes point admettre que trois espèces différentes produisent la même forme aérienne. Je ferai encore remarquer, que la plupart des auteurs qui font dériver le *S. mycoderma* du *S. cerevisiæ*, admettent en même temps que le *Penicillium glaucum* est un dérivé du même ferment. Le *Sacch. cerevisiæ* aura i donc deux formes aériennes, naissant absolument dans les mêmes conditions, ce qui est évidemment contradictoire. Hallier, le plus romancier des botanistes transformistes, a même représenté le *S. mycoderma* (qu'il prend, du reste, pour le ferment du vinaigre) provenant d'une cellule de *S. cerevisiæ*. Mais la figure même lui donne un démenti, car sur l'un des échantillons figurés la cellule du mycoderme dépasse, vers l'intérieur, le contour du *S. cerevisiæ*, et montre ainsi que ces cellules n'étaient qu'accollées et non pas le produit l'une de l'autre. Au reste, les cellules reproductrices (thèques) et les spores du *S. Mycoderma*, qui sont actuellement parfaitement connues, prouvent que cette espèce est bien distincte et non pas seulement une forme d'une autre espèce.

Le rôle chimique du *S. Mycoderma* est tout différent, dans les circonstances ordinaires, de celui des autres espèces : au lieu de produire de l'alcool il le détruit. Pasteur a prouvé que le mycoderme s'empare de l'oxygène de l'air qu'il transmet à l'alcool, et que par cette oxydation énergique, ce dernier est détruit. Mais comment expliquer ce phénomène? Dans le Dictionnaire de chimie (t. I, p. 1449), M. Schützenberger dit : « La fleur de vin détruit l'alcool, mais sans former d'acide. Il y a plus, celui qu'on ajoute disparaît au bout de quelque temps. Ce résultat est encore le fait d'une combustion, mais plus active que la première (celle produite par le ferment du vinaigre) et poussée à ses dernières limites. Quant à l'explication du phénomène, elle ne peut être cherchée que dans un *état physique* propre à la plante, analogue à celle du platine divisé, lui permettant de trans-



porter comme lui l'oxygène à l'alcool ; cet état physique est étroitement lié à la vie du végétal. » Cette explication ne peut être juste : on sait, en effet, que les cellules de la fleur du vinaigre ont à peine 1 micromillimètre de diamètre, et que celles du *S. Mycoderma* couvrent une surface de 20 à 36 micromillimètres carrés. L'état de division de la fleur de vinaigre est donc vingt à trente-six fois plus grand que celui de la fleur de vin, et par conséquent le rôle de ces plantes devrait être interverti.

Dans une note insérée au Bulletin de la Société chimique (1862. p. 66), Pasteur annonce qu'il est parvenu à obtenir une fermentation alcoolique en tenant le *S. Mycoderma* plongé dans une liqueur fermentescible : je ne puis ni confirmer ni contredire ce fait, n'ayant pas eu le temps de répéter l'expérience. Mais je ne puis accepter qu'avec doute la transformation de ce même ferment en ferment de la bière annoncée par le même observateur, et cela pour les motifs déjà énoncés plus haut.

RÉSUMÉ DES CINQ CHAPITRES PRÉCÉDENTS ET CARACTÈRES  
DU GENRE SACCHAROMYCES.

Ainsi qu'on vient de voir par les descriptions précédentes, les espèces du genre *Saccharomyces* sont des champignons inférieurs, ne produisant jamais de mycelium, et où la même cellule peut, selon les circonstances, persister dans sa vie végétative ou devenir organe de fructification. Les genres les plus voisins, tels que l'*Exoascus* par exemple, ont déjà un mycélium et, en outre, des cellules particulières, arrondies, et différentes de celles du mycélium jouent seules le rôle d'organes reproducteurs.

Le genre *Saccharomyces* est pour ainsi dire, le premier essai de la nature, le premier jet d'un champignon ascophore ou thécaphore. De là sa simplicité et la confusion qui existe chez lui entre les organes végétatifs et les organes de la fructification.

*Genre saccharomyces.* Meyen.

Champignons thécaphores simples, sans véritable mycelium. Les organes végétatifs sont des cellules nées le plus souvent par bourgeonnement de cellules semblables et qui, se détachant tôt ou tard de la cellule mère, se multiplient de la même façon. Une partie des cellules ainsi formées, se transforme (dans un autre milieu) en thèques sporifères *nues* : spores unicellulaires au nombre de 1 à 4 dans chaque thèque. La germination des spores reproduit directement des cellules végétatives analogues à celles qui sont nées par bourgeonnement.

ESPÈCES.

1° *S. cerevisiæ* Meyen. Cellules végétatives rondes ou ovales (de 8 à 9 micromillimètres et plus), cellules bourgeons se détachant rapidement pendant une végétation lente, mais restant réunies en chaînettes ou en flocons multicellulaires lorsque la végétation est rapide. Thèques de 11 à 14 micromillimètres, renfermant 2 à 4 spores de 4 à 5 micromillimètres de diamètre.

2° *S. minor* (mihi.) N. Sp. Cellules végétatives complètement sphériques de 6 micromillimètres au plus de diamètre, restant unies en chaînettes ou flocons paucicellulaires (6 à 9). Thèques de 7 à 8 micromillimètres, renfermant 2 à 4 spores de 3 micromillimètres de diamètre.

3° *S. ellipsoideus* Rees. (Ferment ordinaire du vin de Pasteur.) Cellules végétatives ellipsoïdales, à diamètre longitudinal ordinairement de 6 micromillimètres, se séparant facilement par une végétation lente, mais restant unis en flocons ramifiés et courts, lorsque la végétation est rapide. Thèques de 7 à 8 micromillimètres, renfermant 2 à 4 spores (le plus souvent deux), de 3 à 3,5 micromillimètres.

4° *S. Pastorianus*. Rees. (Var. du ferment du vin de Pasteur.) — Cellules végétatives ovales, pyriformes ou allongées en massues : ces dernières surtout sont réunies en flocons de 3 à 6 ; elles mesurent 18 à 22 micromillimètres et poussent latéralement des bourgeons secondaires ovales ou sphériques plus petits.

Thèques pyriformes, en massue ou renflées aux deux extrémités, renfermant 2 à 4 spores, presque toujours unies en dyades et séparées entre elles par du protoplasma. Spores de 6 micromillimètres de diamètre.

5° *S. exiguus*. Rees. — Cellules végétatives coniques ou turbinées de 5 micromillimètres de longueur, sur 2,5 de largeur au gros bout. Flocons peu ramifiés. Spores 2 à 3, ordinairement en file longitudinale dans une thèque de 6 à 6,5 micromillimètres.

6° *S. conglomeratus*. Rees. — Cellules sphériques de 5 à 6 micromillimètres de diamètre, accumulées. Les thèques sont ordinairement réunies à deux, ou unies encore à une cellule végétative de 7 micromillimètres environ, renfermant 2 à 4 spores de 3 micromillimètres environ de diamètre.

7° *S. Mycoderma*. Rees. — Cellules végétatives ovales, ellipsoïdales ou cylindriques, larges de 2 à 3 micromillimètres et d'une longueur moyenne de 7 micromillimètres, formant des réseaux multicellulaires richement ramifiés. Thèques atteignant jusqu'à 20 micromillimètres de longueur, spores 1 à 4 en file longitudinale de 2,5 à 3 micromillimètres de diamètre. Germination inconnue.

---

## CHAPITRE VI.

### LE FERMENT APICULÉ. CARPOZYMA N. G.

Le ferment le plus remarquable et en même temps le plus abondant dans la nature, est celui que j'ai désigné jusqu'ici sous le nom de

ferment apiculé. On le rencontre sur toutes les espèces de fruits, principalement sur les baies et les drupes, et par conséquent dans les moûts qui en sont extraits. Rees l'a trouvé dans une bière belge : je ne l'ai jamais rencontré ni dans les bières, ni dans les levûres de Strasbourg, par contre il était très-abondant, comme je l'ai déjà dit, dans une bière d'Obernai.

La plupart, je pourrai presque dire, toutes les fermentations de moûts de fruits, sont provoquées par la végétation de ce ferment. C'est lui, sauf quelques rares exceptions, que l'on voit bourgeonner en premier lieu. Ses cellules adultes et isolées se présentent sous forme d'un ellipsoïde dont le grand diamètre est ordinairement de 6 micromillimètres, et le diamètre transversal de 3 : à chacune des extrémités se trouve une petite saillie ou *apicule* qui donne à la cellule la forme d'un citron.

L'intérieur de la cellule renferme une vacuole sphérique ou ellipsoïde, autour de laquelle se trouve une couche mince de protoplasma, effilée parfois aux extrémités du grand axe vers les saillies.

Lorsque la cellule végète au milieu d'un liquide fermentescible, les cellules nouvelles se présentent à l'extrémité des saillies. Le plus souvent il en apparaît d'abord une sous-forme d'une petite sphère, et lorsque celle-ci a atteint la moitié de sa grandeur, la seconde apparaît à l'extrémité opposée. D'autres fois, mais plus rarement, les deux cellules filles apparaissent en même temps.

Jamais les cellules nouvelles ne se développent sur d'autres points de la cellule mère.

Rees en voulant faire sporuler le ferment apiculé sur des tronçons de racines-légumes, a remarqué que les cellules filles s'allongeaient considérablement et prenaient une forme cylindrique, sans avoir cependant la moindre tendance à former un mycélium. J'ai remarqué le même fait, non-seulement sur le ferment traité selon la méthode de Rees, mais encore sur des cellules se développant dans un liquide fermentescible, vers la fin de la fermentation.

Lorsque le développement est normal, les cellules nouvelles s'étendent dans le sens de l'axe principal de la cellule mère, en sorte que les trois cellules forment une file longitudinale. Mais, lorsque les cellules nouvelles arrivent au terme de leur croissance, elles prennent une forme elliptique et se replient à leur point d'insertion, de façon que leur grand axe finit par faire un angle droit avec le grand axe de la cellule mère. Ordinairement l'une des cellules se plie à gauche et l'autre à droite.

C'est alors seulement que les jeunes cellules se détachent de la cellule mère. Elles sont alors régulièrement ellipsoïdales et faciles à confondre avec le *Saccharomyces ellipsoïdeus*, mais bientôt après les saillies se dessinent, et il n'est plus possible de confondre les deux ferments.

L'éminent observateur allemand que j'ai déjà si souvent cité, n'est point parvenu à faire fructifier le ferment apiculé au moyen de sa méthode; preuve nouvelle que cette méthode n'est point naturelle. Aussi ne rapporte-t-il qu'avec doute cette espèce au genre *Saccharomyces*. Je montrerai, plus bas, que le mode de fructification de ce ferment est tout à fait différent de celui des espèces du genre précédent.

Lorsque le ferment apiculé est déposé sur le plâtre humide, on voit, au bout de dix à quinze heures au plus, un petit amas de matière protoplasmique clair et brillant se former à l'une des extrémités de la cellule, du côté de la saillie. Quelquefois, mais rarement, il se forme un amas semblable, mais ordinairement plus petit à l'extrémité opposée.

Lorsque l'amas est unique, il s'agrandit encore pendant quelque temps, sans changer de place; puis il chemine vers le centre de la cellule, en traînant quelquefois après lui une queue effilée. Arrivé au centre de la cellule, il prend la forme d'une sphère, en s'agrandissant de plus en plus. Lorsque la cellule a présenté au début deux amas protoplasmiques, ces deux portions se rejoignent d'abord au

centre et finissent par se fondre l'une dans l'autre en prenant la forme sphérique.

Pendant ce temps, les parois de la cellule subissent aussi un changement profond : la membrane cellulaire s'épaissit considérablement et finit par présenter deux contours très-nets et foncés, séparés par un intervalle clair qui, sous certaines inclinaisons de lumière, prend une jolie teinte rosée. Au fur et à mesure que la sphère intérieure grandit et que la membrane cellulaire s'épaissit, les saillies de la cellule deviennent de moins en moins saillantes et finissent par s'effacer complètement : la cellule est alors elliptique et sans apicules.

La sphère centrale s'est, pendant ce temps, recouverte d'une enveloppe cellulaire. A cette époque du développement, la plante présente : 1° une enveloppe extérieure épaisse et qui paraît composée de couches de densité différente; 2° à l'intérieur de cette enveloppe un espace ovoïde ou circulaire rempli de suc cellulaire clair; 3° tout au centre et nageant dans le liquide, la sphère protoplasmique entourée de sa membrane.

La sphère interne continue à s'accroître, l'espace rempli de liquide se rétrécit peu à peu, le diamètre transversal de la membrane extérieure s'allonge rapidement, et le tout finit par prendre l'aspect d'une sphère revêtue simplement par une épaisse membrane extérieure.

Tous ces phénomènes se passent dans l'espace de quarante-huit heures à peine.

Ce ne sont point toujours les cellules isolées qui se transforment en thèques; j'ai rencontré, par exemple, deux cellules encore reliées où la cellule la plus jeune fructifiait seule; dans d'autres cas, les deux cellules filles se transformaient en thèques; enfin, une seule fois, j'ai rencontré trois cellules, toutes trois en voie de transformation.

A cet état de développement le sporange (ou thèque) complet

mesure 9 à 12 micromillimètres, la sphère interne 6 à 9 micromillimètres et la membrane extérieure a 1,5 micromillimètres d'épaisseur. Ces organes de fructification entrent alors dans un état de repos et sont destinés à passer l'hiver sans se développer ultérieurement. La majorité des thèques produites au commencement d'octobre, quoique conservées humides sur le plâtre, n'avait point encore changé d'aspect à la fin du mois de janvier et au commencement de février, c'est-à-dire au bout de quatre à cinq mois.

Vers la fin de février, trois ou quatre de ces thèques ont présenté un développement précoce, et j'ai pu observer quelques-unes des phases de cette transformation.

De Bary, en examinant le développement du *Protomyces macrosporus*, sur lequel je reviendrai plus tard, dit que l'enveloppe de l'asque ou thèque est composée de trois couches, qu'il nomme *épisporange*, *mésosporange* et *endosporange*. Je suivrai la même nomenclature, puisque l'enveloppe des sporanges ou thèques du ferment apiculé se compose du même nombre de couches.

La sphère interne (thèque ou sporange) continuant à s'accroître, l'enveloppe extérieure est soumise à une pression interne croissante, et à laquelle elle finit par ne plus pouvoir résister. La couche la plus extérieure, ou épisporange, se déchire alors en un point de sa circonférence, mais elle continue encore à envelopper complètement les couches les plus profondes. La membrane moyenne ou mésosporange s'imbibe alors d'eau au côté qui correspond à la fissure, elle se gonfle en ce point et finit par former hernie.

L'épisporange se déchire alors complètement et laisse échapper le sporange encore recouvert du mésosporange. Ces organes ne deviennent pas immédiatement libres; ils traînent encore avec eux l'épisporange qui leur reste accolé au moyen du mésosporange gonflé et gélatineux. L'épisporange élastique s'est roulé en spirale et recoquevillé. Le mésosporange finit par se déchirer aussi en plusieurs points et à disparaître. Le sporange s'agrandit encore un peu :

sa membrane, quoique très-délicate, offre un double contour, et son protoplasma, très-finement granulé et répandu dans toute la cellule, surtout vers le centre, contient quelques granules plus gros qui paraissent de nature grasseuse.

Plus tard encore le protoplasma tapisse la paroi interne du sporange; en quelques points la couche paraît plus mince et en d'autres l'accumulation semble être plus forte; le tout présente ainsi un aspect réticulé; les granules gras ont complètement disparu.

Au commencement de mars, quelques sporanges sont encore plus avancés; on y voit un grand nombre de petits grains assez épais de protoplasma, séparés entre eux par un réseau de granulations plus fines. Nul doute, pour moi, que ces petits grains de protoplasma ne soient l'ébauche des spores futures. Au moment de mon départ de Strasbourg (milieu du mois de mars), je n'avais point encore obtenu de spores mûres.

Telles sont les phases du développement des sporanges que j'ai pu observer jusqu'ici. Elles offrent des lacunes, il est vrai, mais je crois, malgré cela, qu'on peut dès à présent fixer la place qu'occupe le ferment apiculé dans le système mycologique. Il n'y a, en effet, jusqu'ici qu'un seul genre de champignons qui offre un mode de développement analogue des sporanges. C'est le genre *Protomyces*, observé d'abord par De Bary; ce genre, composé d'un certain nombre de champignons parasites de végétaux, a surtout été étudié sur une espèce appelée le *Protomyces macrosporus*, parce que les auteurs anciens qui n'ont point suivi le développement de la plante, ont pris le sporange entier pour une spore unique. Cette plante vit en parasite sur certaines ombellifères, surtout sur l'*Egopodium podagraria* et sur le *Meum athamanticum*. D'autres espèces vivent sur différents autres végétaux, par exemple sur le *Menyanthes trifoliata*. La monographie de De Bary ne donne que l'histoire complète du *Pr. macrosporus*; le développement des autres espèces n'est connu que très-incomplètement.



Je ne puis entrer ici dans tous les détails d'observation que De Bary donne dans sa Monographie, je me contente de traduire ici le résumé du développement de ce genre de plantes, tel qu'il a été donné par l'auteur lui-même dans son ouvrage intitulé : *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten*, formant la première partie du second volume du *Handbuch der physiologischen Botanik*, publié par Hofmeister, p. 110.

« Comme nous l'avons déjà indiqué le développement des Asci (thèques) du *Protomyces macrosporus* diffère sous divers points de vue de celui de tous les autres. Ces asques prennent naissance aux hyphes qui ne se réunissent jamais en sporophores, mais dont certaines cellules interstitielles se gonflent en utricules ordinairement larges et ovales, qui ont ordinairement  $\frac{1}{20}$  de millimètre de diamètre. Leur membrane, mince d'abord, s'épaissit considérablement et se compose finalement de trois couches principales, couche interne, médiane et externe : cette dernière couche est elle-même composée d'un grand nombre de couches secondaires qui prennent, sous l'influence de l'iode et de l'acide sulfurique, une coloration d'un bleu intense. Son contenu prend peu à peu l'aspect d'une masse d'un brun-jaunâtre, dense et grossièrement granulée, qui se compose d'une petite masse de protoplasma, et principalement de gros granules gras. A aucune époque on n'a pu y remarquer de nucléus. Les asques persistent dans l'état décrit, pendant que les hyphes du champignon et les organes herbacés des ombellifères dans lesquels ils se sont développés, périssent. Aucun changement ne survient pendant l'hiver, le développement ultérieur des asques n'a lieu que pendant le printemps qui suit leur formation. Sous l'influence de l'eau, la matière grasseuse paraît se dissoudre de la périphérie vers le centre et être remplacée par un protoplasma finement granulé. Lorsque cette évolution est achevée, la membrane interne et son contenu se dilatent, brisent les couches externes et devient libre sous forme d'une vésicule sphérique, s'agrandissant encore pendant un

certain laps de temps. Le protoplasma qui, au début, était surtout accumulé au centre de la vésicule, se dispose peu à peu en une couche pariétale, enveloppant une grande vacuole centrale; dans celle-ci enfin naissent simultanément des centaines de spores cylindriques de 1/450 de millimètre de longueur. Ces spores se réunissent avec le protoplasma qui les entoure et qui n'a point été employé à leur formation, en un peloton rond et dense, s'appuyant sur un des points de la paroi de l'ascus : le protoplasma disparaît rapidement et à la fin le peloton de spores est suspendu dans un liquide aqueux contenu dans la membrane revêtue par l'utricule primordiale.

Pour compléter l'histoire du genre *Protomyces*, il suffit d'ajouter qu'il ne contient que des parasites habitant les parties vertes de diverses plantes phanérogames. Le mycelium, qui occupe exclusivement les méats intercellulaires du parenchyme superficiel de la plante attaquée, se compose de filaments minces, richement, mais irrégulièrement ramifiés. Ces filaments sont divisés par de nombreuses parois transversales, en articulations cylindriques, dont la longueur dépasse deux à plusieurs fois le diamètre transversal. L'accumulation de ces ramifications du mycelium en certains points du végétal attaqué donne naissance à des espèces de callosités, rondes ou allongées. Enfin, ce sont quelques cellules interstitielles du mycelium qui se développent en thèques.

Quant au ferment apiculé, si abondamment répandu sur toutes espèces de fruits, il est difficile d'admettre qu'à une certaine époque de sa vie il vive en parasite et produise ainsi un mycélium : malgré des recherches réitérées sur les fruits et sur les pédoncules des raisins et des cerises, je n'ai jamais trouvé de parasite ayant la moindre analogie avec ce ferment. Les phases du développement de ses thèques, observées jusqu'ici, correspondent à divers degrés de l'évolution des thèques de *Protomyces*. On peut donc conclure, par analogie, à des phénomènes identiques pour les phases non encore observées. Le ferment apiculé serait donc un *Protomyces* sans mycélium et consti-

tuant par conséquent un genre à part que je propose de nommer *Carpozyma* (ferment des fruits). Il occuperait dans le système mycologique, à côté du *Protomyces*, la même place que le *Saccharomyces* occupe à l'égard de l'*Exoascus*.

RÉSUMÉ DU VI<sup>e</sup> CHAPITRE.

*Caractères du genre Carpozyma (mihî).*

Cellules végétatives isolées, produisant à leurs pôles des bourgeons qui se détachent bientôt. Thèques sphériques, revêtues d'une périthèque et hibernant. Développement des spores très-lent. Spores nombreuses ?

*Espèce unique. Carp. apiculatum, (mihî.)* Cellules végétatives ellipsoïdales terminées à leurs pôles par deux mamelons saillants, qui les font ressembler à des citrons.

Vu et approuvé :  
Le Doyen de la Faculté des sciences,  
MILNE-EDWARDS.

Vu et permis d'imprimer :  
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris  
A MOURIER.

# DEUXIÈME THÈSE

---

## QUESTIONS POSÉES PAR LA FACULTE.

---

1° Histoire des actes chimiques de la digestion et anatomie des organes digestifs chez les animaux vertébrés.

2° Structure et classification générale des conifères.

3° Du rôle des animaux et des végétaux inférieurs dans la formation des couches terrestres, soit à l'époque actuelle, soit dans les périodes anciennes.

Vu et approuvé :  
Le doyen de la Faculté des Sciences,  
MILNE EDWARDS.

Vu et permis d'imprimer :  
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,  
A. MOURIER.

## EXPLICATION DES FIGURES

---

- Fig. 1. *Saccharomyces cerevisiæ*. Ferment infère. *a*, bourgeonnement régulier; *b*, bourgeonnement par le côté; *c*, cellule morte.
- Fig. 2. Le même. Levûre de Lahr. *a*, ferment butyrique.
- Fig. 3. Formes allongées de ferment infère produites par l'influence de la chaleur.
- Fig. 4. *Saccharomyces cerevisiæ*, supère.
- Fig. 5. Fructification du *Saccharomyces cerevisiæ*. *a*, division du protoplasma; *b*, thèque avec une dyade de spores; *c*, thèque à triade; *d* et *e*, théques à tétrades.
- Fig. 6. *Saccharomyces minor*, ayant végété dans un milieu liquide.
- Fig. 7. Fructification du même; *a*, dyade; *b*, triade; *c*, tétrade.
- Fig. 8. *Saccharomyces ellipticus*, infère.
- Fig. 9. Le même, supère.
- Fig. 10. Fructification du même. *a*, dyade; *b*, triades; *c*, tétrades.
- Fig. 11. *Saccharomyces Pastorianus*. *a*, forme ovulaire; *b*, pyriforme; *c*, en massue allongée, dont quelques-unes à bourgeons secondaires.
- Fig. 12. Fructification du même.
- Fig. 13. *Saccharomyces exiguus*, en végétation.
- Fig. 14. Le même en fructification; *a*, dyade; *b*, triade; *c*, tétrade.
- Fig. 15. *Saccharomyces conglomeratus*, en végétation.
- Fig. 16. Le même en fructification. *a*, dyades; *b*, triades.
- Fig. 17. *Saccharomyces Mycoderma*; *a*, en végétation; *b*, thèque avec deux spores.
- Fig. 18. *Carpozyma apiculatum*; différentes phases de sa végétation.
- Fig. 19. Fructification du même: *a*, diverses phases de la condensation et du cheminement du protoplasma; *b*, la membrane de la cellule s'épaissit et les apicules s'effacent; *c*, la sphère protoplasmique entourée d'une membrane; *d*, la couche externe du périssporange fendue en un point; *e*, cette même couche commençant à se détacher de la couche moyenne; *f*, la couche moyenne faisant hernie; *g*, la couche extérieure est complètement détachée de la moyenne, sauf en un point; *h*, sporange avec agglomération de protoplasma en certains points; *i*, division ultérieure du protoplasma en petites masses très-nombreuses, donnant probablement naissance aux spores.



Fig. 1.

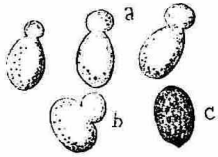


Fig. 2.

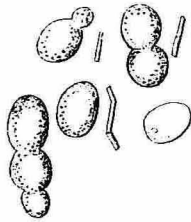


Fig. 3.

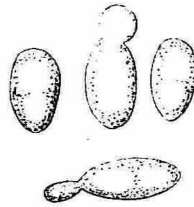


Fig. 4.

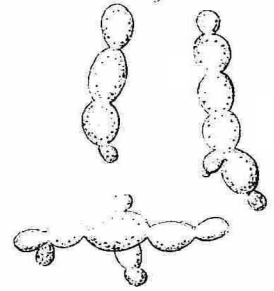


Fig. 5.

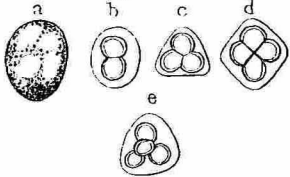


Fig. 6.

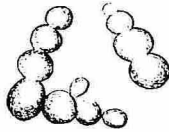


Fig. 7.

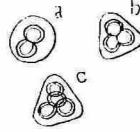


Fig. 8.

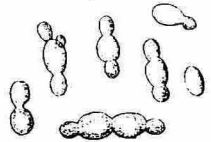


Fig. 9.

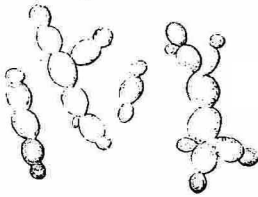


Fig. 10.

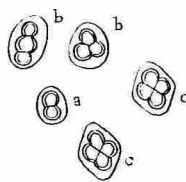


Fig. 11.

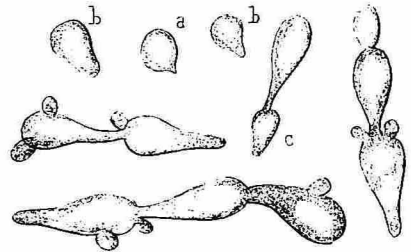


Fig. 12.

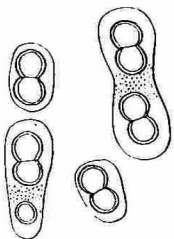


Fig. 13.

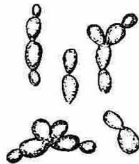


Fig. 14.

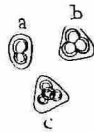


Fig. 15.

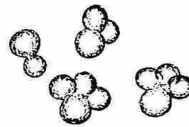


Fig. 16.

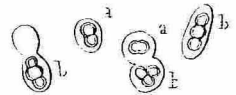


Fig. 17.

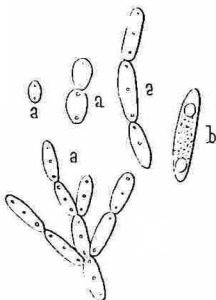


Fig. 18.

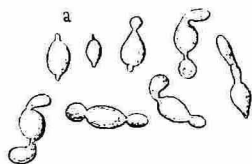


Fig. 19.

