

*Recherches sur la synthèse des substances albuminoïdes par les végétaux* (1); par Ém. Laurent et Ém. Marchal, professeurs à l'Institut agricole de l'État, à Gembloux.

## HISTORIQUE.

### SOURCES DE L'AZOTE DES VÉGÉTAUX.

L'origine des substances albuminoïdes est, à l'heure actuelle, l'un des problèmes les moins élucidés de la chimie biologique.

Cette imperfection ne tient pas seulement à l'état encore peu avancé de nos connaissances sur ces matières, mais aussi à la diversité et même à la complexité des conditions de l'assimilation de l'azote et de ses combinaisons.

Les sources aujourd'hui connues auxquelles les végétaux, qui ont le monopole de la synthèse des substances albuminoïdes, peuvent emprunter leur azote sont :

- 1° L'azote libre;
- 2° L'ammoniaque et ses sels minéraux et organiques;
- 3° L'acide nitrique;
- 4° Les diverses combinaisons organiques azotées.

Si toutes les plantes paraissent capables d'assimiler des substances organiques azotées solubles, si beaucoup

---

(1). Mémoire couronné dans la séance du 15 décembre 1902, portant pour devise : *Solem quis dicere falsum audeat* (VIRGILE).

utilisent sans trop de peine les nitrates et les sels ammoniacaux, celles qui assimilent l'azote libre sont relativement peu nombreuses; toutes appartiennent au monde des organismes inférieurs, vivant à l'état libre ou à l'état de symbiose mutualiste (Léguminées).

Il y a plus. Tandis que les Champignons et d'autres organismes privés de chlorophylle peuvent faire la synthèse des matières albuminoïdes en l'absence de chlorophylle et de lumière, cette fonction chez les végétaux supérieurs est souvent subordonnée à l'intervention de radiations absorbées par les organes verts.

Enfin la complexité de ces substances et la variété des produits qui en dérivent rendent délicates les recherches relatives aux phénomènes de leur production.

Nous allons, dans les pages suivantes, essayer de faire un exposé des principaux travaux relatifs à l'origine des substances albuminoïdes, avec l'espoir de pouvoir en tirer quelques idées générales.

#### ASSIMILATION DE L'AZOTE LIBRE.

L'assimilation de l'azote libre par les végétaux exige, comme tout phénomène endothermique, une source d'énergie, qui est ici empruntée à des substances hydrocarbonées. C'est ce qui ressort à l'évidence des recherches de Winogradsky sur le *Clostridium Pasteurianum* (1), de celles de Beijerinck et Van Delden sur diverses bac-

(1) S. WINOGRADSKY, *Recherches sur l'assimilation de l'azote libre par les microbes* (ARCHIVES DES SCIENCES BIOLOGIQUES, 1895, t. III, n° 4).

téries du sol associées (1) et de celles de Mazé sur le microbe des nodosités des Léguminées (2). Dans ces cas, il y a consommation de grandes quantités de sucre, jusque cent fois et davantage le poids d'azote assimilé.

Il en est tout à fait de même quand des Léguminées pourvues de nodosités sont le siège d'une fixation d'azote libre: il y a, dans ces organes, disparition des réserves d'amidon provenant de l'assimilation chlorophyllienne.

Quant à l'assimilation de l'azote libre par les moisissures, affirmée par plusieurs auteurs et plus récemment par Saida (3), elle devrait, avant d'être admise comme certaine, être démontrée par la méthode directe, c'est-à-dire par la mesure des volumes gazeux. Les cultures à l'air libre sont sujettes à trop de causes d'erreurs du chef des combinaisons azotées de l'atmosphère des laboratoires. Elle a, du reste, été contestée par plus d'un observateur, et notamment par F. Czapek (4).

Malgré l'affirmation de Bouilhac (5), il n'est pas encore

(1) M.-W. BEIJERINCK und A. VAN DELDEN, *Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien* (CENTRALBLATT FÜR BAKTERIOLOGIE, 1902, 2. Abt., Bd IX, S. 3).

(2) MAZÉ, *Les microbes des nodosités des Légumineuses* (ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR, 1898, t. XII, p. 4).

(3) K. SAIDA, *Assimilation des freien Stickstoffs durch Schimmelpilze* (BER. DER DEUTSCH. BOT. GESELLS., 1901, Bd XIX, General Versammlungsheft, S. 107).

(4) F. CZAPEK, *id.*, S. 139.

(5) R. BOUILHAC, *Sur la fixation de l'azote atmosphérique par l'association des Algues et des Bactéries* (COMPTES RENDUS, 1896, t. CXXIII, p. 823).

établi que les Nostocs soient incapables d'assimiler l'azote libre sans la collaboration des bactéries banales qui accompagnent toujours ces Cyanophycées. Quoi qu'il en soit de la nécessité de cette symbiose, la faculté d'assimilation de l'azote libre est là encore liée à l'intervention des produits hydrocarbonés dus à la radiation.

S'il est vrai que d'autres végétaux supérieurs pourvus de nodosités radicales (*Elæagnus*, *Alnus*, *Podocarpus*) puissent aussi se nourrir aux dépens de l'azote libre fixé par des organismes microscopiques (1), peut-être même par des mycorhizes renfermées dans les cellules superficielles des racines, les conditions de cette assimilation nous apparaissent comme très analogues à la même fonction mieux connue chez les Léguminees.

Quant aux plantes vasculaires dont les racines n'ont point de nodosités microbiennes ou de mycorhizes intracellulaires, il faut aujourd'hui leur refuser toute propriété d'assimiler l'azote libre. Les anciennes expériences de Th. Schloesing fils et Ém. Laurent, en atmosphère confinée, ne laissent aucun doute à ce sujet (2).

On peut donc affirmer que seuls les organismes inférieurs sont capables de faire des substances albuminoïdes en partant de l'azote libre et en utilisant des matières hydrocarbonées à la fois comme aliment de constitution et comme source d'énergie.

(1) F. NOBBE und L. HILTNER, *Die endotrophe Mycorhiza von Podocarpus und ihre physiologische Bedeutung* (LANDWIRTH. VERSUCHSSTATIONEN, 1899, Bd LI, S. 241).

(2) TH. SCHLOESING fils et ÉM. LAURENT, *Recherches sur la fixation de l'azote libre par les plantes* (ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR, 1892, t. VI, pp. 61 et 824).

Ici encore, comme pour d'autres travaux synthétiques, les microbes se révèlent doués de propriétés plus actives que les végétaux supérieurs. Il semble que, au cours de l'évolution, la spécialisation des fonctions en ait limité l'étendue en perfectionnant les procédés d'utilisation de la radiation solaire. C'est ce que va démontrer l'examen des conditions de l'assimilation de l'ammoniaque et de l'acide nitrique.

#### ASSIMILATION DE L'AMMONIAQUE.

Pendant longtemps (toute la première moitié du XIX<sup>e</sup> siècle), l'ammoniaque fut considérée comme la source unique d'azote en dehors des combinaisons organiques de cet élément. Les premiers physiologistes, tels Th. de Saussure (1), H. Davy (2), furent amenés à cette idée après avoir constaté l'existence de composés ammoniacaux dans les plantes, les animaux, l'atmosphère et les produits de fermentation du fumier.

Plus tard, la généralisation de l'emploi des nitrates en agriculture et la fréquence des phénomènes de nitrification dans le sol provoquèrent une réaction dans les esprits. Le rôle direct de l'ammoniaque dans l'alimentation des plantes fut souvent méconnu, et beaucoup en vinrent à considérer la nitrification comme un phénomène indispensable à la production végétale. Les

(1) THÉOD. DE SAUSSURE, *Recherches chimiques sur la végétation*, 1804, p. 207.

(2) H. DAVY, *Éléments de chimie agricole* (traduction française), 1819, t. II, p. 49.

microbes qui en sont les auteurs paraissent comme prédestinés à assurer l'alimentation azotée, tout au moins des plantes agricoles.

Les recherches de Sachs (1), de Schloesing père (2) et de Mayer (3) sur l'influence des vapeurs ammoniacales sur les plantes, les travaux plus récents d'Ém. Laurent (4), de A. Muntz (5) et de Pagnoul (6) sur l'absorption de solutions ammoniacales en l'absence de toute nitrification, ont montré que les végétaux vasculaires peuvent tout aussi bien assimiler l'ammoniaque que l'acide nitrique. Celui-ci a l'avantage d'être plus diffusible que celle-là dans la terre arable; de plus, certains végétaux sont exposés à souffrir par suite de la production d'ammoniaque à l'état libre. Il y a, comme Lawes et Gilbert (7) l'ont signalé depuis longtemps, des espèces nitricoles et ammonicoles parmi les plantes des pâturages.

Au reste, il eût suffi de réfléchir aux conditions de la nitrification pour deviner que certains végétaux ne peuvent se nourrir de nitrates. Tels les espèces des marais, les arbres des forêts. Et c'est cette considération

(1) J. SACHS, *Jahresber. für Agrikulturchemie*, 1860-1861, S. 78, et *Chemische Ackersmann*, 1863, S. 163.

(2) TH. SCHLOESING, *Comptes rendus*, 1874, t. LXXVIII, p. 1700.

(3) AD. MAYER, *Landwirth. Versuchs-Stationen*, 1874, Bd XVII.

(4) ÉM. LAURENT, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889, t. III, p. 368.

(5) A. MUNTZ, *Annales de la science agronomique*, 1896, t. I, p. 161.

(6) A. PAGNOUL, *Comptes rendus*, t. CXI, p. 507.

(7) LAWES and GILBERT, *Journal of Roy. Agric. Soc. England*, 1862, vol. XXIII, p. 31.

qui porta H. Molisch (1) à admettre que ceux-ci empruntent leur azote à des combinaisons ammoniacales.

En réalité, l'assimilation de l'ammoniaque doit être, *a priori*, beaucoup plus simple que l'assimilation de l'acide nitrique. En effet, d'après ce que nous savons sur la composition des substances albuminoïdes et de leurs dérivés, le groupement  $AzH^2$  est très répandu chez les végétaux, tandis que le groupement  $AzO^2$  ne paraît pas exister parmi les produits de l'activité cellulaire, à l'exception, bien entendu, des Bactéries nitrifiantes. Après pénétration des nitrates dans les plantes, il y a donc réduction de l'acide nitrique afin de produire des combinaisons contenant  $AzH^2$ . Nous aurons l'occasion d'insister sur l'importance de ce phénomène.

Pour les organismes inférieurs sans chlorophylle (Champignons, Bactéries), les sels ammoniacaux sont d'excellents aliments azotés. En présence de matières hydrocarbonées appropriées, même à l'obscurité, il y a chez ces végétaux production de substances albuminoïdes.

Un tel travail synthétique nous oblige à admettre qu'une partie de l'aliment hydrocarboné est consommée afin de procurer l'énergie chimique nécessaire. Nous retrouvons ici un procédé semblable, mais moins important, à celui que nous constatons plus haut pour la fixation de l'azote libre. Et l'on comprend aisément que certaines espèces (Levures, Bactéries) donnent des rendements plus élevés quand on leur procure, comme

(1) H. MOLISCH, *Ber. der Deutsch. bot. Gesells.*, 1883, Bd I, S. 154, et *Sitz. ber. Math. Naturw. Cl. d. K. Akad. d. Wiss.*, Wien, 1887, S. 225.

aliment azoté, une matière organique (peptone, asparagine).

Au cours de ses recherches sur l'absorption de l'ammoniaque, A. Muntz (1) a constaté que l'assimilation de cette combinaison s'exerce avec plus d'intensité à la lumière qu'à l'obscurité.

A la même époque, Laurent, Marchal et Carpiaux (2) firent des recherches sur les conditions d'assimilation des sels ammoniacaux. Ils constatèrent que les feuilles blanches des espèces panachées assimilent beaucoup mieux l'azote ammoniacal que les feuilles vertes, ce qui montre que la chlorophylle n'est pas nécessaire à ce phénomène.

Néanmoins, ces auteurs ont vu les rayons ultraviolets favoriser l'assimilation de l'ammoniaque dans les organes verts et dans ceux qui sont privés de chlorophylle.

Dans leurs recherches, Laurent, Marchal et Carpiaux n'ont pas distingué, parmi les produits de l'assimilation, les substances albuminoïdes et les corps amidés (amides, acides amidés, asparagine, etc.). Or il est permis de supposer que la synthèse de celles-là est plus difficile que la production de corps amidés, beaucoup plus simples. Ils ne paraissent pas non plus avoir pressenti le véritable rôle de la lumière dans les phénomènes d'assimilation de l'ammoniaque et de l'acide nitrique. Comme nous le verrons bientôt, ce sont les produits hydrocarbonés de l'assimilation chlorophyllienne qui permettent l'introduction

d'un radical ammoniacal dans une molécule organique. Quand ils font défaut, toute assimilation azotée devient impossible.

Ne nous étonnons donc pas si de nouveaux observateurs, dans d'autres conditions d'expérimentation, sont arrivés à des résultats plus ou moins différents, tant pour l'ammoniaque que pour l'acide nitrique.

Ainsi, B. Hansteen (1) a vu le *Lemna minor*, cultivé à l'abri des microbes et en présence de sucres fournis artificiellement, avec du sulfate et du chlorure d'ammonium, produire de l'albumine à l'obscurité. Ces résultats ne sont peut-être pas très concluants, car ils sont entièrement fondés sur des réactions microchimiques et non pas sur des dosages quantitatifs. Si cependant on leur accorde une valeur réelle, on ne peut généraliser cette propriété des *Lemna*, Phanérogames inférieures à structure réduite et vivant dans des conditions spéciales.

#### ASSIMILATION DE L'ACIDE NITRIQUE.

Nous avons déjà fait ressortir que l'acide nitrique est, de même que l'anhydride carbonique, un produit d'oxydation complète et qu'il n'existe pas de groupement  $AzO^2$  dans les produits d'assimilation végétale. Celle-ci comporte donc nécessairement un phénomène réducteur. Il est assez naturel que l'on ait pressenti le rôle des feuilles et de la lumière dans ce travail préliminaire de l'assimilation des nitrates.

(1) *Loc. cit.*, pp. 210 et suiv.

(2) *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1896, 3<sup>e</sup> sér., t. XXXII, p. 815.

(1) *Ber. der Deutsch. bot. Gesells.*, 1896, Bd XIV, S. 362.

Déjà en 1875, Sorokine (1) indiquait qu'il y a moins de nitrates dans les feuilles de Sarrasin que dans le reste de la plante.

Mais Pagnoul (2), en recherchant l'origine des nitrates contenus dans le jus de la Betterave à sucre, fut le premier à constater que, dans les feuilles vertes exposées au soleil, il y a disparition des nitrates et formation de combinaisons organiques azotées. Ce savant ne tarda pas à attribuer aux radiations solaires absorbées par la chlorophylle un rôle actif dans la réduction de l'acide nitrique comme dans celle de l'anhydride carbonique.

Emmerling (3), dans ses travaux sur l'origine des matières albuminoïdes, Molisch (4), au cours de ses recherches sur les nitrates des tissus végétaux, Berthelot et André (5), en appliquant l'analyse chimique à la même étude, et enfin G. Capus (6) arrivèrent, par des moyens très différents, à des conclusions analogues à celle de Pagnoul.

Capus se servait d'un réactif des nitrates encore peu connu des botanistes, le chlorhydrate de cinchonamine, qui forme avec l'acide nitrique un précipité cristallin bien apparent. Même chez les espèces avides de nitrates (*Sinapis*, *Brassica*, *Mercurialis*, ...), ils se trouvent princi-

(1) *Botan. Jahresber.*, 1875, S. 851.

(2) *Annales agronomiques*, 1879, t. V, p. 481; 1881, t. VII, p. 5, et *Bull. de la Station agronomique du Pas-de-Calais*, 1890, p. 27.

(3) *Landwirth. Versuchs-Stationen*, 1880, Bd XXIV, S. 137.

(4) *Loc. cit.*, 1883.

(5) *Comptes rendus*, 1884, t. XCVIII, p. 1506, et t. XCIX, pp. 559 et 591.

(6) *Annales agronomiques*, 1886, t. XII, p. 24.

palement dans la tige (moelle et écorce); il y en a beaucoup moins, sinon pas du tout, dans les parenchymes foliaires.

En somme, chez les plantes herbacées, il y a des nitrates surtout dans la tige, moins dans la racine et peu dans les feuilles; les graines en sont toujours dépourvues.

Quoique d'accord sur les faits précédents, tout au moins pour beaucoup de plantes, A. Frank (1) pensait que les feuilles ne sont pas les organes exclusifs de l'assimilation des nitrates, mais que celle-ci pouvait aussi avoir lieu dans tous les organes de la plante.

A l'occasion de ses recherches sur l'origine des cristaux d'oxalate de calcium, W. Schimper (2) avait remarqué l'action des radiations absorbées par la chlorophylle sur la disparition du nitrate de calcium; celui-ci persiste dans les feuilles blanches de *Pelargonium* exposées à la lumière et dans les feuilles vertes à l'obscurité.

Laurent, Marchal et Carpiaux (3) ont précisé le rôle de la lumière et de la chlorophylle par la méthode analytique, assurément plus probante que l'emploi de réactifs colorants pour résoudre un problème de cette nature.

Voici les conclusions de ces auteurs relatives à l'acide nitrique :

1° Chez les plantes supérieures, l'assimilation des

(1) *Ber. der Deutsch. bot. Gesells.*, 1887, Bd V, S. 472, et *Landwirth. Jahrbücher*, 1888, Bd XVII, S. 462.

(2) *Botan. Zeitung*, 1888, et *Flora*, 1890.

(3) *Loc. cit.*



nitrate n'a pas lieu à l'obscurité; elle exige l'intervention des rayons ultra-violet;

2° L'assimilation de l'azote nitrique à la lumière est surtout active dans les feuilles vertes, et beaucoup plus faible dans les feuilles blanches;

3° L'assimilation de l'azote nitrique donne lieu à une production intérimaire d'ammoniaque.

Il importe de remarquer que, sauf dans une expérience, ces auteurs opéraient avec des tiges ou des feuilles étiolées. Des résultats fournis par un essai avec des graines d'orge, ils auraient pu conclure à l'assimilation de l'ammoniaque et de l'acide nitrique à l'obscurité.

Sous l'impression des faits qu'ils venaient de constater chez les organes foliaires, ils ont cru pouvoir conclure à la nécessité de la lumière pour la production de combinaisons organiques azotées, et ils espéraient vérifier cette opinion chez les graines en germination.

Peu de temps après la publication du mémoire de Laurent, Marchal et Carpioux, Godlewski (1) annonçait des résultats qu'il avait obtenus avec des plantules de Froment mises en germination à la lumière et à l'obscurité dans des solutions pourvues ou non de nitrates. Toute assimilation de l'anhydride carbonique était empêchée, ce qui forçait les plantes à se nourrir aux dépens des réserves hydrocarbonées de leur albumen.

Godlewski constata à la lumière une abondante production de substances protéiques aux dépens du nitrate et des substances hydrocarbonées de réserve. A l'obscurité, cette production était minime ou nulle, mais il y

(1) *Anzeiger d. Akad. d. Wiss. in Krakau*, März 1897, S. 104.

avait une quantité très notable de corps amidés, résultant d'une assimilation incomplète de l'acide nitrique en présence des réserves des graines.

La lumière paraît donc nécessaire à la synthèse des substances protéiques, mais non à celle des corps amidés. Chez les plantules en germination, il y aurait donc un travail de construction organique qui se ferait en deux étapes; pour l'une, les radiations lumineuses seraient indispensables.

Remarquons tout de suite que dans les essais de Hans-teen rapportés plus haut, il n'y avait pas production d'albuminoïdes lorsqu'on donnait au *Lemna minor* un nitrate et un sucre, ce qui confirme notre opinion sur l'assimilation plus facile de l'ammoniaque.

Déjà G. Kinoshita (1) était arrivé à une constatation semblable dans des essais faits avec de l'Orge et du Maïs en germination à l'obscurité: l'ammoniaque est assimilée et provoque une formation abondante d'asparagine.

U. Suzuki (2) confirme et complète ces résultats en montrant que l'assimilation des nitrates demande une température plus élevée et la présence de sucres. Sans sucre, les plantes étiolées ne donnent pas d'asparagine aux dépens de l'acide nitrique. Le même auteur a aussi constaté à l'obscurité une formation de matières protéiques aux dépens de nitrate et de sucre.

Enfin pour W. Zaleski (3), en présence d'hydrates de

(1) *Bull. of the College of Agriculture*. Tokyo, 1895.

(2) *Id.*, vol. II, p. 465, et *Botan. Centralbl.*, 1898, Bd LXXV, S. 289.

(3) *Ber. der Deutsch. bot. Gesells.*, 1897, Bd XV, p. 536.

carbone appropriés, les feuilles peuvent aussi à l'obscurité assimiler les nitrates et produire des substances albuminoïdes.

Mais comme il existe déjà dans les organes étudiés par ces observateurs des corps amidés, on ne peut affirmer que c'est l'azote de l'acide nitrique qui a servi directement à l'édification des matières protéiques.

Tous ces résultats, malgré leur diversité, paraissent correspondre à des faits bien observés et ne peuvent être interprétés qu'en admettant des aptitudes synthétiques différentes chez les végétaux. Il faut aussi tenir compte de la nature des organes étudiés (tiges, feuilles, graines en germination) et surtout des substances organiques contenues dans les tissus au moment des expériences.

Dans le cas des plantes vertes, on s'explique la nécessité des radiations lumineuses par leur influence sur la production des hydrates de carbone. Et quand il s'agit de l'assimilation des nitrates, on peut même supposer que des corps réducteurs puissent prendre naissance à la suite de la décomposition de l'anhydride carbonique et exercer un rôle actif sur l'acide nitrique.

Remarquons cependant que cette dernière propriété ne s'applique pas à l'assimilation de l'ammoniaque, puisque Laurent, Marchal et Carpiaux l'ont observée dans des tissus privés de chlorophylle.

Chez les graines en germination, on comprend qu'il y ait assimilation de l'ammoniaque à l'obscurité, grâce aux réserves hydrocarbonées. De même, on conçoit que, dans les mêmes conditions, Laurent (1) l'avait autrefois démon-

(1) *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1890, 3<sup>e</sup> sér., t. XX, p. 478.

tré, les nitrates puissent aussi être réduits. L'acide nitrique serait ainsi assimilé avec formation de corps amidés sans trop de difficulté.

Quant à la production de substances protéiques, lors de la germination ou en présence de sucre, mais à l'abri de la lumière, ce serait, sans doute, un travail synthétique dont l'énergie est empruntée à une source hydrocarbonée, comme chez les Champignons.

#### ASSIMILATION DES SUBSTANCES ORGANIQUES AZOTÉES.

L'assimilation des substances organiques azotées dépend de leur état soluble ou de la sécrétion de zymases appropriées à leur digestion. Il convient aussi de tenir compte de la grosseur de la molécule alimentaire, de la nécessité de la compléter par des phénomènes de synthèse. Enfin, certaines combinaisons azotées peuvent aussi avoir une action toxique lorsqu'elles atteignent une certaine concentration.

Dans la question actuelle, il est prudent de n'accorder qu'une valeur très relative aux résultats des anciens travaux (Hampe, Knop, Johnson,...), faits à une époque, avant 1870, où l'on ne pouvait guère soupçonner les effets de l'intervention des microbes.

Pour ce qui est de l'urée, Suzuki (1) a signalé combien elle est favorable à certaines plantes vasculaires. Il est possible qu'elle n'y soit pas transformée en ammoniaque et qu'elle soit directement assimilée.

L'absorption d'asparagine par les racines de plantes

(1) *Loc. cit.*



(Maïs) cultivées dans des solutions nutritives (1) est aussi bien connue et n'a rien qui puisse étonner. Il est même permis de concevoir la culture de plantes dans des solutions stériles de peptone.

Au reste, les plantes carnivores (*Nepenthes*, *Dionæa*, *Drosera*, etc.) nous ont maintenant familiarisés avec l'utilisation de corps protéiques solubles par les plantes vertes. Et s'il fallait un exemple plus convaincant, il suffirait de rappeler que l'albumen d'un grain d'Orge peut être digéré indifféremment par l'embryon formé normalement dans le même sac embryonnaire ou par un embryon de même espèce, mais enlevé à une autre semence. L'assimilation de substances organiques est une question de digestion, puis d'absorption, et il est, au fond, assez indifférent que la source alimentaire soit externe ou interne.

Les capacités digestives des organismes inférieurs sont, par suite de leurs sécrétions, très développées ; il en est de même de leur pouvoir d'assimilation.

Grâce aux études de L. Lutz (2), nous possédons aujourd'hui de nombreuses observations faites à l'abri des causes d'erreurs dues aux impuretés des cultures. En voici les conclusions les plus intéressantes.

Les plantes phanérogames, à l'abri de l'intervention des organismes inférieurs, peuvent assimiler directement les amines sous forme de sels, sans transformation en ammoniaque, à la condition que le radical substitué à l'hydrogène n'ait pas une grandeur moléculaire trop éle-

(1) BOESSLER, *Landwirth. Versuchs-Stationen*, 1887, Bd XXXIII, S. 231.

(2) L. LUTZ, *Annales des sciences nat. botan.*, 1899, p. 4.

vée. Ainsi les mono, bi et triméthylamines sont assimilées ainsi que la butylamine et l'amylamine, mais non la benzylamine, l'aniline, la naphtylamine, la bêtaïne, la leucine, la tyrosine et la pyridine. Plusieurs de ces derniers corps sont du reste très toxiques.

Les sels d'ammoniums composés (tétraméthyl et tétraéthylammonium) et d'alcaloïdes (caféine, quinine, cocaïne, ...) employés seuls comme sources d'azote n'ont pas été assimilés.

Des Algues (*Protococcus viridis*, *Mesocarpus pleurocarpus*) assimilent les méthyl-, éthyl-, propyl-, butyl-, amyl-, benzylamines, la pyridine et même l'allylamine, mais non la naphtylamine et la diphenylamine, ni les sels d'alcaloïdes et les sels d'ammoniums composés.

Une Oscillaire (?) a même assimilé la bêtaïne, la glycolamine et les sels d'ammoniums composés.

Parmi les Champignons, le *Penicillium glaucum* et l'*Aspergillus niger* assimilent les méthyl-, éthyl-, propyl-, butyl-, amyl-, allyl-, glycolamine, la bêtaïne et la leucine.

Les amines phénoliques (naphtyl- et diphenylamines) ne sont pas assimilées, de même que les sels d'ammoniums composés.

En présence d'azotate d'ammoniaque, la pyridine, les sels d'ammoniums composés et les alcaloïdes (cocaïne, morphine) sont assimilés. Pour ces diverses combinaisons, comme pour les amines, le pouvoir alimentaire est en raison inverse de la grandeur moléculaire.

Une combinaison azotée directement assimilable agit donc comme agent d'entraînement, et l'on peut arriver à faire absorber aux Champignons des doses considérables d'alcaloïdes.

Il semble donc exister, parmi les matériaux constitués

azotés des Champignons, des corps dont l'élaboration exige l'intervention d'aliments particuliers, tandis que des combinaisons moins favorables pourraient servir seulement à la production d'autres substances probablement moins complexes.

Des faits de même ordre sont également connus pour les matières hydrocarbonées : l'acide oxalique n'est pas un aliment plastique, mais il peut, associé à des sucres, être oxydé et devenir une source d'énergie.

Pareille remarque a son importance dans l'étude actuelle : elle nous montre que dans un milieu aussi complexe que les cellules végétales, la puissance des phénomènes synthétiques peut dépendre de la nature même des substances organiques et minérales qui s'y trouvent rassemblées.

De récentes recherches de Czapek (1) sur l'*Aspergillus niger* ont complété les résultats de Lutz sur le rôle des diverses combinaisons organiques dans la nutrition de cette moisissure et montré surtout l'action favorable des acides amidés dans les diverses séries organiques.

Chez les plantes supérieures (*Vicia*, *Ricinus*), d'intéressants essais d'injection de substances amidées ont été faits par Hansteen (2). Cet expérimentateur a ainsi introduit dans des plantules des espèces précitées des quantités considérables d'asparagine et de glutamine associées à des sucres et alors a constaté une production de

(1) F. CZAPEK, *Ber. der Deutsch. bot. Gesells.*, 1901, General Versammlung, S. 107, et *Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol.*, von FR. HOFMEISTER, Bd 1, Heft 10 bis 12.

(2) B. HANSTEEN, *Jahrbücher für wissensch. Botanik*, 1901, Bd XXXIII, Heft 3, S. 417.

matières albuminoïdes. On peut pourtant se demander si celles-ci ont pris naissance aux dépens des corps amidés introduits, ou bien si d'autres substances amidées déjà contenues dans les cellules épuisées n'ont pas été l'objet d'une régénération albuminoïde.

Dans le même ordre d'idées, il convient de citer des recherches de Kosutany (1) d'après lesquelles l'asparagine produite pendant l'assimilation diurne se transformerait pendant la nuit en matières albuminoïdes.

Pour ce qui est des matières organiques azotées du sol, il semble peu probable qu'elles soient absorbées en quantité notable par la majorité des plantes vasculaires, par suite de la concurrence des organismes inférieurs. Cependant, on ne peut nier qu'une telle absorption puisse avoir lieu chez les espèces à mycorhizes et les espèces humicoles.

#### LES PREMIERS PRODUITS DE L'ASSIMILATION DE L'ACIDE NITRIQUE.

La réduction de l'acide nitrique sous l'influence de la lumière fut d'abord signalée par Laurent (2) et ensuite confirmée par Berthelot (3). Il y a production d'acide nitreux, de peroxyde d'azote et d'oxygène. Ce phénomène de décomposition endothermique est surtout influencé par les rayons les plus réfrangibles.

(1) *Landwirth. Versuchs-Stationen*, 1897, Bd XLVIII, S. 419.

(2) *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1890, 3<sup>e</sup> sér., t. XX, p. 303, et 1894, t. XXI, p. 337.

(3) *Comptes rendus*, t. CXXVIII, p. 87, et *Revue scientifique* du 30 juillet 1898.

L'intervention de corps réducteurs produits dans les tissus à chlorophylle exposés à la lumière doit certes favoriser la réduction de l'acide azotique. Par suite de leur dilution extrême dans les sucres cellulaires et de l'acidité de ceux-ci, les nitrates sont très probablement presque toujours dissociés et l'acide azotique s'y trouve ainsi à l'état libre.

Dès 1872, A. Gautier (1) attribuait un rôle actif à l'aldéhyde formique produite par la réduction de l'anhydride carbonique dans l'assimilation de l'acide azotique. L'opinion a été reprise par Bach (2), qui, à la suite d'expériences réalisées *in vitro*, a émis l'hypothèse suivante :

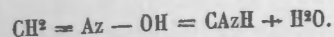
Dans les feuilles, l'acide azotique, réduit par l'aldéhyde formique, se transformerait successivement en acide azoteux,  $O = Az - OH$ , acide hypoazoteux  $O = AzH$ , dans lequel, pour satisfaire l'atomicité de l'azote, H doit déjà être lié directement à l'azote. Par une nouvelle soustraction d'oxygène, il resterait le groupe  $= AzH$ , qui, en fixant les éléments de l'eau, donnerait de l'hydroxylamine  $H^2 = Az - OH$ . Combiné à l'aldéhyde formique, ce corps deviendrait la formaldoxime,  $CH^2 = Az - OH$ , qui se convertit facilement en formiamide  $CHO - AzH^2$ .

Par déshydratation, la formaldoxime et la formiamide peuvent donner de l'acide cyanhydrique, dont nous

(1) *Cours de chimie*, t. III, p. 67, en note.

(2) *Monit. scientif. de Quesneville*, 1897, p. 5, et *Comptes rendus*, 1897, t. CXXII, p. 1499.

aurons bientôt à indiquer la production chez une espèce qui se nourrit de nitrates



La formation des groupements amidés peu stables, tels que la formiamide ou d'autres combinaisons éphémères capables, avec de la magnésie, de donner de l'ammoniaque, paraît confirmée par les observations de Laurent, Marchal et Carpiaux sur les feuilles vertes nourries avec nitrates et exposées au soleil : il s'y forme de l'ammoniaque, ou tout au moins des combinaisons qui, en présence de la magnésie, se comportent comme telles.

Pour A. Gautier (1), l'acide cyanhydrique constituerait la chaîne centrale ou noyau des substances albuminoïdes, auquel seraient rattachés des radicaux divers (OH, CO, groupements aldéhydiques). La facilité avec laquelle l'acide cyanhydrique peut se polymériser et aider à la constitution de molécules complexes est un nouvel argument favorable à l'hypothèse de Gautier. Au reste, l'adénine,  $C^8H^5Az^5$ , découverte par Kossel et retrouvée par lui chez les divers végétaux, en fut une première confirmation. Mais ce sont surtout les recherches de M. Treub sur le *Pangium edule* qui lui ont apporté les faits les plus remarquables (2).

Cette espèce de la flore équatoriale produit de l'acide cyanhydrique dans ses divers organes en quantité relativement considérable (jusqu'à 1 %).

(1) *Cours de chimie*, édit. de 1892, t. III, pp. 65 et suiv.

(2) *Annales du Jardin de Buitenzorg*, 1896, vol. XIII, p. 1.

Treb a montré que ce corps apparaît tout aussi bien dans les feuilles étiolées que dans les feuilles vertes, à l'obscurité comme à la lumière. Il prend surtout naissance dans les cellules basilaires des poils et dans les cellules à oxalate de calcium. Comme Schimper et Wehmer l'avaient déjà observé, ce sel paraît alors un déchet dû à la décomposition du nitrate de chaux et d'autres combinaisons de la même base en présence d'acide oxalique.

A. Gautier avait déjà insisté sur la facilité avec laquelle l'acide cyanhydrique se combine à divers corps organiques, surtout à ceux de nature aldéhydrique comme les sucres. Les travaux de Fischer sur la synthèse de ces hydrates de carbone en sont des exemples remarquables.

Il convient encore de rappeler avec quelle facilité l'acide cyanhydrique prend naissance dans la décomposition de diverses substances azotées, comme la formiamide, l'acide nitrolactique (L. Henry), etc.

Signalons en outre de récentes observations de A. Hébert (1), qui a, chez l'*Aquilegia vulgaris*, montré l'existence de petites quantités de corps cyanés dans les organes verts, à l'exclusion des tissus (pétales, étamines) privés de chlorophylle.

Jusqu'ici l'hypothèse de Bach n'a pas reçu de confirmation expérimentale. Des essais entrepris par L. Lutz (2) sur diverses espèces de Phanérogames, d'Algues et de Champignons avec des solutions nutritives contenant de l'hydroxylamine n'ont donné que des résultats négatifs.

(1) *Annales agronomiques*, 1898, t. XXIV, p. 416.

(2) *Comptes rendus du Congrès des Soc. sav.*, 1899.

Pour l'acide cyanhydrique, dont la toxicité est bien connue, nous ne possédons pas de faits relatifs à son assimilation par les cellules végétales. D'après Lutz (1), les nitriles, groupe auquel appartient cet acide, le formonitrile, seraient inassimilables pour les moisissures, mais les nitriles inférieurs de la série acyclique ont été consommés par deux espèces d'Algues.

Il faut toutefois se garder de généraliser prématurément la portée de résultats négatifs.

A l'heure actuelle, l'acide cyanhydrique peut donc être considéré comme l'un des premiers produits, sinon le premier, de l'assimilation des nitrates, au moins chez certains végétaux. Il serait, pour ce phénomène, ce que l'aldéhyde formique est pour la réduction de l'anhydride carbonique, avec cette différence que cette dernière fonction et par conséquent la production d'aldéhyde paraît liée à l'intervention de la lumière et de la chlorophylle. Au contraire, la formation de l'acide cyanhydrique par réduction des nitrates peut, dans certains cas (*Pangium*), se faire dans les tissus privés de chlorophylle et à l'obscurité.

Nous pouvons interpréter cette particularité en supposant que des corps réducteurs existent dans ces tissus, ne dérivent pas directement de l'assimilation chlorophyllienne, mais peuvent se combiner avec l'acide azotique et donner naissance à des composés cyanés.

Il est permis d'admettre la même explication pour les divers organes capables de réduire les nitrates et spécialement pour les graines en germination.

(1) *Comptes rendus du Congrès des Soc. sav.*, 1900.

Ce seraient là, chez les plantes vasculaires, des cas exceptionnels de l'assimilation de l'acide nitrique. Bien plus économique doit être la réduction de ce corps quand elle s'opère au soleil dans les cellules vertes en même temps que celle de l'anhydride carbonique et à l'aide de produits immédiats de l'assimilation du carbone.

#### SYNTHÈSE ET MUTATIONS DES SUBSTANCES ALBUMINOÏDES.

Chez les organismes inférieurs privés de chlorophylle, la question de l'origine des substances protéiques est relativement simple. Dès 1869, Pasteur (1) montrait que la Levure de bière, cultivée à l'obscurité dans un milieu minéral additionné de sucre et de sel ammoniacal, peut édifier sa matière vivante, c'est-à-dire faire la synthèse des albuminoïdes. Il en est de même des Bactéries et des Champignons cultivés dans des conditions analogues, en présence d'un nitrate ou d'un sel ammoniacal.

L'énergie nécessaire à ces travaux de synthèse est alors empruntée à la matière hydrocarbonée.

C'est par un procédé de même nature que les microbes fixateurs d'azote libre construisent leur matière protéique. Mais qu'il s'agisse de l'assimilation de l'azote libre, de l'ammoniaque ou de l'acide azotique par les organismes inférieurs, nous n'avons aucune notion précise sur la marche progressive de ces travaux synthétiques.

Nous ne sommes pas beaucoup mieux renseignés en ce qui concerne les mêmes phénomènes chez les plantes vertes, ainsi que nous l'avons déjà fait remarquer.

(1) *Annales de chimie et de physique*, 1869, t. LVIII.

Dès 1865, J. Sachs (1) posait la question de l'origine des substances albuminoïdes. Il ne lui paraissait pas impossible qu'en dehors des feuilles il pût s'en produire par la combinaison des principes élaborés non azotés avec l'ammoniaque ou l'acide nitrique.

Plus tard, le même physiologiste (2) attribua aux tubes criblés un rôle dans la production des matières protéiques; il ne pensait pas que la lumière fût une condition nécessaire de la synthèse de ces substances. Pfeffer (3) admit aussi cette dernière opinion, qui fut exagérée par Van Tieghem (4) : l'assimilation de l'azote, disait cet auteur, à partir des composés ternaires, est une propriété générale du protoplasme.

Les premières observations sur la genèse des substances albuminoïdes sont dues à Emmerling (5), qui attribua leur production aux feuilles sous l'influence de la lumière.

Sachs (6) arriva à une conclusion analogue pour ce qui est des substances albuminoïdes nécessaires à la formation des boutons floraux; il assignait un rôle actif aux rayons ultra-violets.

Treub (7) ne précise pas si l'acide cyanhydrique du *Pangium* peut, à l'obscurité, servir à la synthèse des corps protéiques.

Bien qu'ils n'aient point fait de distinction entre les

(1) *Physiologie végétale* (traduction française), p. 371.

(2) *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, S. 392.

(3) *Pflanzenphysiologie*, 1881, Bd I, S. 239.

(4) *Traité de botanique*, 1891, t. I, p. 668.

(5) *Landwirth. Versuchs-Stationen*, 1880, Bd XXIV, S. 137.

(6) *Arbeit. des botan. Instit. in Würzburg*, 1887, Bd III, S. 372.

(7) *Loc. cit.*

substances albuminoïdes et les substances organiques azotées non albuminoïdes, Laurent, Marchal et Carpioux (1) ont mis en évidence l'influence de la lumière dans la question actuelle. La formation des matières azotées organiques, aux dépens de l'ammoniaque et de l'acide azotique, serait, pour eux, due à l'action de la lumière aussi bien dans les feuilles privées de chlorophylle que dans les feuilles vertes.

E. Carpioux (2), dans ses recherches sur le développement de la Chicorée à l'obscurité, n'a pas constaté une augmentation de la teneur en albuminoïdes, bien que les racines mises en expérience fussent largement pourvues de corps amidés et d'inuline.

Godlewski (3) a insisté sur la possibilité de la production des corps amidés dérivés de nitrates à l'obscurité, et sur la nécessité de la lumière pour la synthèse des substances protéiques.

Nous savons déjà que Kinoshita et Suzuki sont du même avis en ce qui concerne les corps amidés, que Suzuki, Hansteen, Zaleski et Palladine (4) ont constaté une production d'albuminoïdes à l'obscurité lorsqu'on fournit aux organes étudiés un sel ammoniacal ou un nitrate associé à des aliments hydrocarbonés convenables.

D'après Palladine, les feuilles étiolées, pourvues artificiellement de saccharose produisent beaucoup plus de matières protéiques non digestibles dans le suc gastrique

(1) *Loc. cit.*

(2) *Bull. de l'Agriculture de Belgique*, 1904, t. XVII, p. 564.

(3) *Loc. cit.*

(4) *Revue de botanique*, 1899, t. XI, p. 81.

quand elles sont exposées à la lumière qu'à l'obscurité. Il est vrai que les feuilles étaient devenues vertes.

Les rayons les plus réfringibles du spectre avaient une action prépondérante sur la formation des matières protéiques en question, sans doute analogues aux nucléines.

Bref, dans les feuilles, la synthèse des albuminoïdes paraît en relation très étroite avec l'influence de la lumière, dont on conçoit l'utilisation dans un travail chimique de cette nature. Ailleurs (graines en germination et peut-être organes verts), il pourrait y avoir production de substances albuminoïdes à l'obscurité, mais, comme chez les Champignons, au prix d'une consommation de matières hydrocarbonées.

Nous venons de signaler le cas des corps amidés qui peuvent naître à l'abri de la lumière. L'histoire de ces substances est assez complexe, précisément parce que, chez les plantes, elles ont une double origine : ce sont tantôt des produits immédiats de l'assimilation et tantôt des produits plus ou moins directs de la désassimilation des matières albuminoïdes.

Il en est de même de l'acide cyanhydrique; chez le *Pangium*, il correspond évidemment à une phase d'assimilation; dans les feuilles des Amygdalées, lors du dédoublement de l'amygdaline, dans les graines en germination, c'est au contraire un résidu de la décomposition de corps azotés plus complexes, ainsi que l'a démontré A. Jorissen (1).

Souvent, il doit être difficile de dresser un inventaire

(1) *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1887, 3<sup>e</sup> sér., t. VII, et *Mémoires couronnés*, 1886, t. XXXVIII.



exact de ce qui, pour l'asparagine, les corps amidés et l'acide cyanhydrique, appartient aux produits d'assimilation et à ceux de désassimilation. Plus d'un observateur, sans s'en douter, a dû confondre les produits de l'une ou l'autre origine, spécialement lors de la germination des graines.

Ajoutons encore à cette source d'erreurs le fait que les corps amidés sont plus diffusibles que les substances albuminoïdes et que, dans leurs migrations à travers la plante, celles-ci semblent circuler à l'état amidé.

Telle est du moins l'opinion souvent admise.

C'est ainsi que l'histoire de l'asparagine est si complexe.

Assurément, l'opinion de Pfeffer et de Borodine sur l'accumulation d'asparagine dans les graines riches en réserves azotées germant à l'obscurité est exacte : cette substance résulte alors du dédoublement des albuminoïdes avec consommation du groupement hydrocarboné qu'ils renferment et accumulation d'un résidu amidé. Il importe peu que l'asparagine soit un produit direct de décomposition ou qu'elle soit déjà un état de condensation de corps plus simples (acides amidés), comme l'ont indiqué divers auteurs (Schulze, Prianischnikow).

A côté de cette asparagine résiduaire, qui se transforme facilement en matières protéiques en présence de sucres, il existe sûrement de l'asparagine qui provient de phénomènes de synthèse. Frank et Otto (1) l'avaient déjà signalé pour les feuilles à la lumière; nous avons rappelé que la même constatation a été faite par Kinoshita et Suzuki pour les graines en germination.

(1) *Ber. der Deutsch. bot. Gesells.*, 1890. Bd IX.

Dans ces derniers cas, l'asparagine apparaît comme un produit intérimaire de l'assimilation des substances albuminoïdes; elle s'accumulerait dans les conditions où la synthèse totale de celles-ci ne serait pas réalisée.

D'autres combinaisons azotées peuvent aussi dériver tantôt de phénomènes synthétiques et tantôt de phénomènes de désassimilation. Telle paraît encore l'ammoniaque : des sels ammoniacaux peuvent être introduits dans la plante comme aliments; il peut s'en produire soit par réduction des nitrates (Laurent, Marchal et Carpioux), soit à la suite de phénomènes d' inanition, comme Muntz (1), Berthelot (2) et d'autres l'ont prouvé pour les plantes supérieures. Chez les microbes, c'est un résidu très fréquent de l'activité cellulaire, fait qui a été remis en évidence par les recherches d'Ém. Marchal (3) sur diverses espèces de moisissures et de bactéries.

Puisque nous sommes occupés à passer en revue les déchets de la désassimilation des substances albuminoïdes, signalons ce fait important constaté par Lutz : Des plantes adultes, placées dans un milieu nutritif avec amines non assimilables, ont dégagé de l'azote libre par suite de phénomènes de désassimilation provoquée par l' inanition. Toutefois, le même observateur a vérifié, ce qui avait déjà été indiqué par divers auteurs et d'une façon plus probante par Th. Schloesing fils (4), qu'il n'y a pas de perte d'azote pendant la germination des graines.

(1) *Loc. cit.*, p. 213.

(2) *Comptes rendus*, 1889, t. CIX, p. 419.

(3) *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1893, 3<sup>e</sup> sér., t. XXV, p. 727.

(4) *Comptes rendus*, 1895, t. CXX, p. 1278.

Si ce procédé d'élimination de l'azote semble exceptionnel, on en connaît de nombreux exemples chez les Bactéries qui font fermenter les substances organiques azotées. Mentionnons, dans cet ordre d'idées, les observations de Grimbert (1) prouvant que le dégagement d'azote libre n'a lieu, chez le Colibacille, qu'en milieu anaérobie pourvu de peptone et d'amide.

D'autres circonstances rendent le problème des mutations des matières protéiques très complexe.

A l'heure actuelle, nous groupons encore dans l'étude des questions d'assimilation, sous cette dénomination des substances qui doivent avoir une constitution chimique différente. Il y aura lieu de distinguer celles qui se rattachent aux nucléines, les plus simples d'après les travaux de Kossel, et celles qui ressemblent davantage à l'albumine. Mais ce progrès ne sera réalisé que le jour où la chimie sera dotée de meilleurs procédés de différenciation et d'analyse des substances protéiques.

Une dernière cause de complications provient des transformations que ces substances subissent lors de leurs migrations à travers les tissus des plantes. Tels que nous les concevons actuellement, les albuminoïdes sont peu solubles, difficilement diffusibles. Par contre, les corps amidés sont plus favorables aux phénomènes de transport. On suppose que les produits de l'assimilation circulent surtout à l'état amidé (2). Les études d'Emmerling (3) sur la Fève ont montré que lors de la maturité,

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899, t. XIII, p. 67.

(2) U. SUZUKI, *Bull. of Coll. of Tokyo*, vol. III, p. 241.

(3) A. EMMERLING, *Landwirth. Versuch-Stationen*, Bd. LIV.

il y a diminution des corps amidés divers, non seulement dans les graines, mais aussi dans les gousses et les feuilles, où ils étaient auparavant abondants. Et ce sont les bases azotées (lécithine, choline, bêtaïne,...) qui dominent dans les graines.

Jusqu'à quel point les radiations lumineuses interviennent-elles dans la constitution des réserves albuminoïdes des graines et même des tubercules aux dépens des corps amidés, des substances sucrées et des autres produits d'assimilation? Une réponse catégorique à cette question est en ce moment impossible. Et l'on peut d'ores et déjà supposer qu'il y aura là des conditions tellement variables avec la nature des espèces et des organes qu'on ne pourra pas en faire l'objet d'une conception générale. Bref, si l'influence de la lumière doit être favorable en certaines circonstances, il est des cas où elle peut être remplacée par l'utilisation d'une autre source d'énergie (matières hydrocarbonées).

Les mêmes conceptions sont tout aussi admissibles lorsqu'il s'agit des transformations des réserves albuminoïdes lors de la germination. Comme l'a fait remarquer J. Goldberg (1), elles se trouvent dans l'albumen à l'état insoluble, doivent être digérées pour passer dans l'embryon et s'y reconstituent à l'état albuminoïde. Bien que l'auteur n'ait pas constaté d'augmentation du taux en matières protéiques, il conclut que l'embryon peut en produire à l'obscurité en prétextant qu'elles seraient incapables de traverser les membranes. Ce n'est là qu'une simple conjecture.

(1) *Revue de botanique*, 1899, t. XI, p. 337.

## RECHERCHES PERSONNELLES.

Les expériences dont nous allons exposer les résultats avaient pour objet de préciser le rôle de la lumière dans l'assimilation de l'acide nitrique et de l'ammoniaque, et dans la synthèse des substances albuminoïdes aux dépens de ces combinaisons. Les premières ont été entreprises sur des plantules vertes et étiolées de Cresson alénois (*Lepidium sativum*) et de Moutarde blanche (*Sinapis alba*). Les graines étaient mises en germination sur une étamine tendue au-dessus de cristallisoirs remplis d'eau et recouverts d'une cloche.

Des essais ont été faits aussi avec des tiges étiolées de Poireau et des bourgeons étiolés de Chicorée. Enfin, on a soumis à des expériences analogues des tiges étiolées d'Asperge, des tiges vertes de la même plante, de Pomme de terre, de Moutarde blanche, de Mélilot élevé, des feuilles d'Épinard et des fleurs de Lilas Varin.

## MÉTHODES D'ANALYSES.

Nous avons suivi, dans le dosage des diverses combinaisons de l'azote contenues dans les plantes étudiées, les méthodes adoptées dans les laboratoires d'analyses de l'État de Belgique et de Hollande (1). En voici l'exposé sommaire.

(1) *Méthodes de convention pour l'analyse des matières fertilisantes suivies dans les laboratoires belges et les stations agricoles hollandaises.* Bruxelles, 1899.

*Détermination de l'azote total.*

En présence de nitrates en quantité notable, cette détermination était effectuée par le procédé Kjeldahl-Jodlbauer. On prend 1 à 2 grammes de substance sèche que l'on introduit dans un ballon Kjeldahl avec 20 à 30 centimètres cubes d'acide sulfophénique contenant par litre 60 à 100 grammes d'acide phénique cristallisé. Chauffer légèrement et ajouter, après refroidissement, 1 gramme de poudre de zinc. Laisser digérer à froid pendant deux à trois heures et continuer ensuite comme dans la méthode de Kjeldahl ordinaire.

*Détermination de l'azote total moins l'azote nitrique.*

Dans les échantillons qui ne renfermaient que des traces de nitrates (graines), on a déterminé l'azote total par le procédé Kjeldahl.

Introduire dans un ballon Kjeldahl 1 à 2 grammes de substance sèche, 10 à 15 centimètres cubes d'acide sulfurique et 0<sup>gr</sup>,8 de bioxyde de mercure. Chauffer jusqu'à décoloration complète. Après refroidissement, diluer et faire passer dans le ballon à distillation avec 50 à 60 centimètres cubes d'une solution de soude concentrée (une partie de NaOH et deux parties d'H<sup>2</sup>O), 10 à 15 centimètres cubes d'une solution de sulfure de sodium à 10 % et 1 gramme de poudre de zinc. Distiller et recueillir les vapeurs dans de l'acide sulfurique titré dont l'excès est ensuite déterminé par la soude titrée avec le tournesol comme indicateur.

Lorsque la substance contenait des doses notables de nitrates, on chassait l'acide azotique par ébullition avec

l'acide chlorhydrique et le chlorure ferreux, puis on continuait comme ci-dessus.

La comparaison des résultats obtenus par ce procédé et de ceux que donne la méthode Kjeldahl-Jodlbauer permettait de déterminer l'azote nitrique.

#### *Détermination de l'azote albuminoïde.*

Procédé Stutzer : Peser 1 gramme de substance sèche, introduire dans un ballon et faire bouillir. Ajouter 2 à 3 centimètres cubes d'une solution saturée d'alun, puis, à l'aide d'une pipette, une quantité d'hydrate de cuivre correspondant à environ 0<sup>gr</sup>,4 d'oxyde cuivrique. Après refroidissement, ramener le précipité sans perte sur un filtre ; laver à l'eau, puis à l'alcool. Introduire le résidu dans un ballon Kjeldahl et le traiter par la méthode ordinaire.

#### *Détermination de l'azote ammoniacal.*

Peser 1 à 2 grammes et introduire dans un ballon à distillation avec un faible excès de magnésie calcinée. Distiller et recueillir les vapeurs dans l'acide sulfurique titré.

Dans ces conditions, la décomposition des corps amidés peu stables est très faible.

#### *Détermination de l'azote amidé.*

Par suite du défaut de rigueur des diverses méthodes de dosages des substances amidées, l'azote de ces dernières a été obtenu par différence, en diminuant le chiffre de l'azote total moins les nitrates du total de l'azote albuminoïde plus l'azote ammoniacal.

Ces diverses méthodes ne sont pas absolument rigou-

reuses, mais à défaut de procédés plus parfaits actuellement connus, nous estimons que nos résultats, toujours comparatifs, nous renseignent avec assez de précision sur les mutations des combinaisons de l'azote chez les végétaux.

Il ne sera peut-être pas inutile de faire remarquer que presque tous les dosages ont été faits en double, afin d'éliminer les causes d'erreur accidentelles. Chaque fois que les deux résultats obtenus par un même échantillon n'étaient pas concordants, en tenant compte des limites d'erreurs inévitables, on n'a pas hésité à faire un ou plusieurs nouveaux dosages.

#### **Expérience I.**

##### *Assimilation de l'ammoniaque par le Cresson.*

Le 1<sup>er</sup> décembre 1899, trois lots de 4 grammes de graines de Cresson alénois sont mis à germer à la lumière diffuse du laboratoire; la température varie entre 8° et 15°.

Le 12, une culture est retirée et desséchée; elle servira de témoin. Puis on ajoute aux deux autres cultures les sels suivants :

|                                |                   |
|--------------------------------|-------------------|
| Sulfate d'ammoniaque. . . . .  | 1 %               |
| Sulfate de potassium . . . . . | 0.5               |
| Sulfate de magnésium. . . . .  | 0.5               |
| Sulfate de calcium . . . . .   | 0.5               |
| Phosphate de sodium . . . . .  | 0.5               |
| Sulfate de fer . . . . .       | quelques gouttes. |

Une culture est maintenue à la lumière et l'autre est recouverte d'un cylindre obscur.

On a mis fin à l'expérience le 22 décembre.

Voici les résultats des analyses :

| LOTS.   | Azote total moins azote nitrique en milligrammes. | Azote ammoniacal en milligrammes. | Azote amidé en milligrammes. | Azote albuminoté en milligrammes. | Azote organique total en milligrammes. |
|---|---|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|--|
| Graines originelles. . . . .                        | 164,8   | 1,8                               | 3,2                          | 159,8                             | 163,0                                  |
| Plantules vertes (sans sels nutritifs). . . . .     | 165,7   | 0,7                               | 4,6                          | 160,4                             | 168,0                                  |
| Plantules vertes à la lumière avec sels nutritifs.  | 196,4   | 2,3                               | 4,8                          | 189,3                             | 194,1                                  |
| Plantules vertes à l'obscurité avec sels nutritifs. | 176,7   | 5,8                               | 15,0                         | 155,9                             | 170,9                                  |

Il convient de remarquer qu'en décembre, la lumière est faible et que la température ambiante était peu élevée; souvent le thermomètre descendait la nuit à 8° centigrades. Néanmoins, les plantules de Cresson ont, à la lumière, formé des substances albuminoïdes :  $189^{\text{mgr}},3$  —  $160^{\text{mgr}},4$  =  $28^{\text{mgr}},9$ , dont l'azote a été sûrement emprunté au sulfate d'ammoniaque.

À l'obscurité, il y a eu diminution du taux des matières protéiques et une légère augmentation des corps amidés. Si une partie de ceux-ci a pu prendre naissance pendant l'utilisation de la réserve albuminoïde, il n'en est pas moins vrai qu'il y a eu accroissement de l'azote organique total :  $170^{\text{mgr}},9$  —  $165^{\text{mgr}},0$  =  $5^{\text{mgr}},9$ , chiffre supérieur à la limite d'erreurs inévitables dans les dosages.

#### Expérience II.

##### *Assimilation de l'acide nitrique par le Cresson.*

Le 28 août 1900, on met à germer des graines de Cresson à la lumière; il y en a trois lots de 6 grammes. Le 13 septembre, les cultures restent stationnaires par suite de l'épuisement des réserves; on en retire une ce jour-là, pour la soumettre à la dessiccation.

L'eau contenue dans les deux autres cristallisoirs est remplacée par la solution suivante :

|                                |                   |
|--------------------------------|-------------------|
| Eau. . . . .                   | 1000 cent. cubes. |
| Nitrate de potassium . . . . . | 1 gramme.         |
| Sulfate de magnésium . . . . . | 0gr,5.            |
| Sulfate de calcium . . . . .   | 0gr,5.            |
| Phosphate de sodium . . . . .  | 0gr,5.            |
| Sulfate de fer . . . . .       | quelques gouttes. |
| Saccharose . . . . .           | 40 grammes.       |

Une culture est laissée à la lumière, tandis que l'autre est placée à côté, à l'obscurité.

L'expérience a duré jusqu'au 21 septembre et a donné les résultats suivants :

| LOTS.   | Azote total moins azote nitrique en milligrammes. | Azote ammoniacal en milligrammes. | Azote amidé en milligrammes. | Azote albuminoïde en milligrammes. | Azote organique total en milligrammes. |
|---|---|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------------|--|
| Graines originelles . . . . .                                 | 247,2   | 2,7                               | 4,8                          | 239,7                              | 244,5                                  |
| Plantules vertes témoins. . . . .                             | 246,6   | 18,9                              | 86,0                         | 441,7                              | 227,7                                  |
| Plantules vertes placées à l'obscurité avec nitrate . . . . . | 260,3   | 2,6                               | 67,6                         | 230,1                              | 287,7                                  |
| Plantules vertes placées à la lumière avec nitrate . . . . .  | 443,4   | 8,9                               | 37,4                         | 397,1                              | 434,5                                  |

De l'examen de ces chiffres, on peut conclure que, pendant leur germination à la lumière, les graines avaient été le siège d'une abondante transformation des albuminoïdes en corps amidés et d'une production notable d'ammoniaque. Ce dernier fait, ainsi que la forte diminution du poids sec constatée, montre que les plantules souffraient d'inanition, faute d'aliments minéraux.

Après addition de sels appropriés et de sucre, les plantules vertes mises à l'obscurité ont assimilé  $287^{\text{mgr}},7 - 227^{\text{mgr}},7 = 60$  milligrammes, empruntés, partie au résidu ammoniacal formé précédemment, partie au nitrate. En même temps, il y a eu reconstitution de substances albuminoïdes :  $220^{\text{mgr}},1 - 141^{\text{mgr}},7 = 78^{\text{mgr}},4$ . Comme les graines originelles en contenaient  $259^{\text{mgr}},7$ , on ne peut affirmer si ce sont les dérivés amidés produits pendant la germination qui, en présence du sucre, ont été repris par le travail de synthèse, ou si des corps amidés provenant de l'acide nitrique y ont participé.

Quoi qu'il en soit, il y a eu diminution du chiffre de l'azote amidé.

Signalons encore la disparition presque complète de l'azote ammoniacal, ce qui témoigne du pouvoir d'assimilation de l'ammoniaque à l'obscurité, en présence du sucre.

Quant aux plantules vertes maintenues à la lumière, elles ont assimilé une quantité très importante d'azote aux dépens du nitrate :  $434^{\text{mgr}},5 - 227^{\text{mgr}},7 = 206^{\text{mgr}},8$ , et il y a eu une abondante production d'albuminoïdes, à laquelle le nitrate absorbé a sûrement contribué. A noter aussi l'existence d'un peu d'ammoniaque et le taux relativement faible des corps amidés.



## Expérience III.

Assimilation de l'ammoniaque et de l'acide nitrique  
par la Moutarde.

Cette expérience, commencée le 19 mars 1901, comprend six lots de 10 grammes de graines de Moutarde blanche. Il y en a trois exposés à la lumière et trois à l'obscurité, sous des cylindres opaques.

Le 30 mars, alors que les tiges vertes ont 10 à 12 millimètres de hauteur et les tiges étiolées 18 à 20 millimètres, on additionne les six cultures de

|                                 |                   |
|---------------------------------|-------------------|
| Phosphate de potassium. . . . . | 0.5 ‰             |
| Sulfate de magnésium. . . . .   | 0.5 ‰             |
| Sulfate de calcium . . . . .    | 0.5 ‰             |
| Sulfate de fer. . . . .         | quelques gouttes. |

De plus, à une culture verte et à une culture étiolée, on ajoute 1 ‰ de nitrate de potassium; la même quantité de sulfate d'ammoniaque est introduite dans une autre culture verte et dans une culture étiolée.

Le 6 avril, les six cultures ont été soumises à la dessiccation pour être analysées.

| LOTS.  | Matière sèche en grammes. | Azote total moins azote nitrique en milligrammes. | Azote ammoniacal en milligrammes. | Azote amidé en milligrammes. | Azote albuminofide en milligrammes. | Azote organique total en milligrammes. |
|--|---------------------------|---|-----------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|--|
| Plantules vertes témoins à la lumière. . . . .                       | 7,403                     | 362,7   | 42,1                              | 74,9                         | 275,7                               | 360,6                                  |
| Plantules vertes avec nitrate de potassium à la lumière . . . . .    | 7,448                     | 393,8   | 45,7                              | 76,8                         | 303,3                               | 380,1                                  |
| Plantules vertes avec sulfate d'ammoniaque à la lumière . . . . .    | 7,370                     | 457,0   | 37,4                              | 129,4                        | 290,2                               | 449,6                                  |
| Plantules étiolées témoins à l'obscurité. . . . .                    | 6,971                     | 369,5   | 42,0                              | 89,3                         | 261,2                               | 350,5                                  |
| Plantules étiolées avec nitrate de potassium à l'obscurité . . . . . | 7,074                     | 392,6   | 30,1                              | 105,6                        | 255,9                               | 362,5                                  |
| Plantules étiolées avec sulfate d'ammoniaque à l'obscurité.          | 7,039                     | 440,3   | 62,1                              | 93,4                         | 254,8                               | 348,2                                  |

Exposées à la lumière, les plantules vertes de Moutarde blanche ont élaboré des substances albuminoïdes aux dépens du sulfate d'ammoniaque et plus encore aux frais du nitrate de potassium. Elles ont aussi formé un supplément de corps amidés avec le premier de ces sels.

Chez les plantules étiolées, à l'obscurité, aucune synthèse de matières albuminoïdes n'a été observée. Celles auxquelles on avait donné du nitrate contenaient de l'ammoniaque, due à la réduction de ce sel, et présentaient un gain assez faible en produits amidés de même origine.

#### Expérience IV.

##### Sur l'assimilation de l'acide nitrique par le Poireau et la Chicorée étiolée.

Le 15 mars 1902, on fait trois lots aussi identiques que possible de tiges étiolées de Poireau provenant de la récolte de 1901. Chacun pèse 100 grammes; d'autre part, on réunit des bourgeons de Chicorée Witloof (chicons) de manière à constituer aussi trois lots de 200 grammes.

Un lot de chaque catégorie est desséché immédiatement; un second est placé dans un récipient avec de l'eau; quant au troisième, il plonge sur une profondeur de 3 à 4 centimètres dans la solution indiquée à la page 56. Ces deux lots de Poireau et Chicorée sont maintenus à l'obscurité, dans une armoire noire, à la température de 15° à 20°. Tous les deux jours, on renouvelle la solution nitrique pour éviter l'intervention des organismes inférieurs; le 25 mars, c'est-à-dire au dixième jour, on met fin à l'expérience et l'on constate que les tiges de Poireau ont donné des racines dans la solution nitrique, preuve qu'elles n'avaient pas souffert de ce mode de culture artificielle.

Les résultats des analyses sont consignés dans le tableau suivant :

| LOTS.  | Poids sec en grammes. | Azote total moins azote nitrique en milligrammes. | Azote ammoniacal en milligrammes. | Azote amidé en milligrammes. | Azote albuminoïde en milligrammes. | Azote organique total en milligrammes. |
|--|-----------------------|---|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------------|--|
| Poireaux témoins . . . . .                             | 9,352                 | 363,6   | 14,4                              | 128,8                        | 220,4                              | 349,2                                  |
| Poireaux plongés dans l'eau . . . . .                  | 8,430                 | 364,7   | 16,7                              | 127,3                        | 220,7                              | 348,0                                  |
| Poireaux plongés dans la solution nitrique . . . . .   | 9,324                 | 364,0   | 22,4                              | 121,2                        | 217,4                              | 338,6                                  |
| Chicorées témoins . . . . .                            | 6,386                 | 423,8   | 5,0                               | 28,7                         | 85,0                               | 413,7                                  |
| Chicorées plongées dans l'eau . . . . .                | 5,990                 | 423,0   | 7,8                               | 30,0                         | 85,2                               | 415,2                                  |
| Chicorées plongées dans la solution nitrique . . . . . | 6,666                 | 428,1   | 8,4                               | 34,8                         | 82,1                               | 416,9                                  |

La teneur en matières albuminoïdes n'a augmenté ni dans les tiges de Poireau ni dans les bourgeons de Chicorée étiolés et maintenus à l'obscurité; même il y a eu une légère diminution dans les deux cas. Elle n'est guère supérieure à la limite d'erreurs; si elle est réelle, elle doit être attribuée à une sorte d'excitation provoquée par la solution nitrique.

Quant à la diminution du poids sec des deux lots plongés dans l'eau, elle s'explique par la perte de matière brûlée pendant la respiration, perte compensée dans les deux autres lots par une absorption de sucre.

Comme on le voit, la présence de l'hydrate de carbone assimilable ne suffit pas, dans les tissus étiolés des deux espèces étudiées, à déterminer une production d'albuminoïdes à l'obscurité.

#### Expérience V.

*Sur la production des substances albuminoïdes à la lumière et à l'obscurité.*

Après les essais précédents, nous pouvons conclure que, chez les plantes supérieures, la production des matières albuminoïdes paraît liée à la présence de la chlorophylle et à l'intervention de la lumière.

Une dernière série de recherches entreprise sur des plantes et des organes variés confirmera cet important résultat.

Des diverses combinaisons azotées qui se retrouvent

chez les végétaux, la forme albuminoïde est, dans cette circonstance, la seule à considérer. C'est pourquoi nous avons seulement dosé les matières albuminoïdes dans les résultats fournis par l'expérience actuelle. Ainsi le travail matériel a été notablement réduit sans diminuer la valeur de la conclusion. Et c'est d'autant plus vrai que le dosage des albuminoïdes par la méthode de Stutzer est d'une exactitude tout à fait remarquable, à tel point que presque tous les dosages faits en double donnaient des résultats concordants à quelques dixièmes de milligramme près.

Le 6 juin 1902, au soir, on préparé une solution de nitrate de potassium de 1 ‰ additionnée de 2 ‰ de saccharose, dans laquelle on laisse plonger les matériaux suivants :

- 50 grammes de tiges vertes de Pomme de terre (avec feuilles);
- 60 — de tiges blanches d'Asperge;
- 60 — de tiges vertes d'Asperge;
- 50 — de tiges vertes de Moutarde blanche (avec feuilles);
- 50 — de tiges vertes de Mélilot élevé (avec feuilles);
- 50 — de feuilles d'Épinard;
- 30 — de fleurs de Lilas Varin.

Le tout est aussitôt mis à l'air libre, de manière à se trouver en pleine lumière le lendemain matin dès le lever du soleil.

En même temps, on avait préparé pour chaque espèce un lot témoin destiné à l'analyse et un troisième lot qui

a été plongé dans la solution nitrique sucrée, mais celui-ci se trouvait à l'obscurité.

Dans la journée du 7 juin, le ciel fut partiellement couvert le matin, mais très lumineux pendant tout l'après-midi. A 7 heures du soir, c'est-à-dire après seize heures d'insolation, les lots exposés à la lumière furent retirés en très bon état de conservation.

Le tableau suivant indique la richesse en matières albuminoïdes des vingt et un lots étudiés, exprimée en milligrammes :

|                                 | Lots<br>témoins. | Lots<br>à<br>l'obscurité. | Lots<br>à<br>la lumière. |
|---------------------------------|------------------|---------------------------|--------------------------|
| Tiges vertes de Pomme de terre. | 218,3            | 219,2                     | 228,2                    |
| Tiges blanches d'Asperge. . . . | 130,4            | 131,4                     | 132,3                    |
| Tiges vertes d'Asperge. . . . . | 181,8            | 180,3                     | 208,3                    |
| Tiges de Moutarde blanche . . . | 287,7            | 288,8                     | 307,9                    |
| Tiges de Mélilot . . . . .      | 317,0            | 317,0                     | 378,7                    |
| Feuilles d'Épinard . . . . .    | 184,3            | 178,4                     | 176,9                    |
| Fleurs de Lilas Varin . . . . . | 113,7            | 111,6                     | 110,0                    |

Aucune des espèces étudiées n'a donné, à l'obscurité, une augmentation en matières albuminoïdes. A la lumière, seuls les organes à chlorophylle, l'Épinard excepté, ont présenté une assimilation de ces substances.

Le résultat donné par cette dernière espèce s'explique **probablement** par l'immersion complète des feuilles dans la solution nitrique.

#### Expérience VI.

*L'assimilation de l'azote nitrique et la production des substances albuminoïdes sont-elles dues à l'intervention des zymases (diastases) synthétiques ?*

Depuis quelques années, les physiologistes tendent de plus en plus à attribuer à des actions zymotiques ou diastasiques les réactions chimiques qui s'accomplissent dans les tissus des êtres vivants. Les travaux de Buchner sur l'alcoolase et surtout ceux de G. Bertrand sur les oxydases ont apporté à cette doctrine des arguments d'une valeur incontestable. Il s'agit, dans ces exemples, de phénomènes de dédoublement ou d'oxydation tout différents des réactions synthétiques qui caractérisent les phénomènes de l'assimilation chez les végétaux.

Déjà Friedel (1) avait annoncé la possibilité d'obtenir la décomposition de l'anhydride carbonique par des sucres végétaux, opinion infirmée par Harroy (2).

Des résultats obtenus au cours des recherches actuelles nous avaient conduits à supposer, dès 1900, que la réduc-

(1) *Comptes rendus*, 1901, t. CXXXII.

(2) *Id.*, 1901, t. CXXXIII, p. 890.



tion des nitrates et la synthèse des combinaisons organiques de l'azote pouvaient aussi résulter de l'intervention de zymases. La grande importance d'une telle observation nous a rendus circonspects, et nous avons tenu à faire des essais multiples afin de nous convaincre. Nous ne rapporterons ici que les résultats de l'expérience VI, la plus complète de cette série.

Le 3 août 1901, on a mis en germination six lots de 10 grammes de graines de Moutarde, dont trois étaient à la lumière et trois à l'obscurité.

Le 12 août, les tiges vertes ont 45 à 55 millimètres de hauteur, tandis que les tiges étiolées atteignent 70 à 90 millimètres.

Deux cultures vertes et deux autres étiolées sont broyées avec soin dans un mortier, et l'on ajoute au produit 500 milligrammes de nitrate de potassium fondu. Les deux dernières cultures servent de témoins.

Des quatre cultures broyées, une verte et une étiolée sont chauffées à l'autoclave à 120° pendant quinze minutes; les deux autres ne sont pas chauffées; le tout est placé à 4 1/2 heures du soir à l'obscurité jusqu'au lendemain à 8 1/2 heures du matin, c'est-à-dire pendant seize heures. Les matériaux furent desséchés au bain-marie, puis broyés et soumis à l'analyse. En voici les résultats :

| LOTS.  | Azote total moins azote nitrique en milligrammes. | Azote ammoniacal en milligrammes. | Azote amidé en milligrammes. | Azote albuminote en milligrammes. | Azote organique total en milligrammes. |
|--|---|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|--|
| Culture verte témoin. . . . .                                      | 376,0   | 44,2                              | 75,3                         | 289,5                             | 364,8                                  |
| Culture verte additionnée de nitrate. . . . .                      | 395,4   | 32,4                              | 76,9                         | 286,1                             | 363,0                                  |
| Culture verte additionnée de nitrate et chauffée à 120°. . . . .   | 388,2   | 26,4                              | 74,3                         | 287,5                             | 364,8                                  |
| Culture étiolée témoin . . . . .                                   | 375,6   | 9,7                               | 404,1                        | 264,8                             | 365,9                                  |
| Culture étiolée additionnée de nitrate . . . . .                   | 392,5   | 26,8                              | 400,2                        | 265,5                             | 365,7                                  |
| Culture étiolée additionnée de nitrate et chauffée à 120°. . . . . | 388,4   | 49,1                              | 98,5                         | 268,8                             | 364,3                                  |

Non seulement le taux des matières albuminoïdes n'a pas été modifié au cours de l'expérience, mais il en a été de même de la teneur en substances amidées. Seuls les chiffres relatifs à l'azote ammoniacal ont subi une augmentation par suite de la réduction partielle du nitrate par les suc; ce phénomène était plus sensible dans les liquides non chauffés à 120°. Cette observation concorde avec les propriétés réductrices des nitrates par des tissus végétaux signalée autrefois par Laurent (1), et confirme les idées de Laurent, Marchal et Carpiaux (2) sur la production intérimaire d'ammoniaque dans l'assimilation de l'acide nitrique.

#### Expérience VII (3).

Dans l'expérience précédente, les suc provenant du broyage des plantules ont été maintenus à l'obscurité. Nous supposons que si elles renfermaient des zymases synthétiques, celles-ci pouvaient fonctionner en l'absence de lumière. Cette conception devait *a priori* être rejetée, attendu que ces substances, dans les conditions normales, sont influencées par la radiation.

L'essai actuel a été conduit de manière à tenir compte de l'action de la lumière.

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890, t. IV, p. 722.

(2) *Loc. cit.*

(3) Les résultats de cette expérience et des suivantes ne figuraient pas dans le mémoire primitif; ils ont été ajoutés pendant l'impression.

Le 29 juillet 1902, trois lots de 10 grammes de Moutarde blanche furent mis en germination à la lumière, à côté des lots compris dans les expériences VIII et IX.

Le 7 août, on a introduit les sels minéraux nutritifs (voir p. 106), et l'on a abandonné les trois cultures jusqu'au 15 de ce mois. Ce jour-là, une des cultures a été desséchée telle quelle à l'étuve, tandis que les deux autres ont été broyées très finement dans un mortier. On a soumis une de ces dernières cultures à l'autoclave à 120° pendant vingt minutes.

Les produits de broyage des deux cultures ont ensuite été additionnés de 0<sup>gr</sup>,5 de nitrate de potassium et exposés à la lumière pendant toute la journée du 16, et ensuite desséchés au bain-marie.

Le dosage des albuminoïdes a donné comme résultats :

|  |                       |
|--|-----------------------|
| Culture témoin . . . . .                               | 253 <sup>m</sup> gr,7 |
| Culture broyée avec nitrate, non chauffée . . . . .    | 251 <sup>m</sup> gr,5 |
| Culture broyée avec nitrate, chauffée à 120° . . . . . | 242 <sup>m</sup> gr,6 |

Si des zymases synthétiques existent dans les plantes vertes, elles ne semblent pas pouvoir fonctionner en dehors des cellules vivantes.

Pour ce qui est de la teneur en albuminoïdes des plantules chauffées à 120° (242<sup>m</sup>gr,6), inférieure aux chiffres du témoin et du lot non chauffé, il convient sans doute de l'attribuer à l'action de la chaleur sous pression sur les diverses substances protéiques. N'aurait-elle pas eu pour effet de diminuer leur coagulabilité par les sels cuivriques mis en œuvre dans la méthode de Stutzer?



**Expérience VIII.**

*La Moutarde blanche peut-elle produire des substances albuminoïdes aux dépens des corps amidés fournis comme aliments ?*

Le 29 juillet 1902, on met en germination sept lots de 5 grammes de graines de Moutarde blanche, dans les conditions adoptées pour les essais précédents.

Le 7 août, une culture est retirée et soumise à la dessiccation. Quant aux six autres, on y introduit par litre d'eau :

|  |       |
|--|-------|
| Phosphate acide de potassium . . . . . | 0gr,5 |
| Sulfate de magnésium . . . . .         | 0gr,5 |
| Sulfate de calcium . . . . .           | 0gr,5 |

Puis à deux cultures, on additionne 1 ‰ d'asparagine; à deux autres, 1 ‰ d'acétamide, et aux deux dernières, 1 ‰ de formiamide.

Une des deux cultures de chaque catégorie est placée à la lumière, sur la fenêtre du laboratoire, tandis que l'autre est maintenue dans l'armoire obscure. L'expérience a été prolongée jusqu'au 11 août; dans l'intervalle, la radiation ne fut pas très vive, car la pluie fut assez fréquente et le temps souvent couvert.

Voici les résultats des dosages d'albuminoïdes du témoin et des six lots additionnés de corps amidés; nous y

joignons, pour comparaison, la teneur des graines originelles en albuminoïdes.

|   |                       |
|---|-----------------------|
| Graines originelles (5 gr.) . . . . .             | 212 <sup>m</sup> gr,7 |
| Plantules témoins. . . . .                        | 156 <sup>m</sup> gr,7 |
| Plantules avec formiamide à la lumière . . . . .  | 154 <sup>m</sup> gr,8 |
| Plantules avec acétamide à la lumière. . . . .    | 145 <sup>m</sup> gr,3 |
| Plantules avec asparagine à la lumière . . . . .  | 156 <sup>m</sup> gr,3 |
| Plantules avec formiamide à l'obscurité . . . . . | 142 <sup>m</sup> gr,1 |
| Plantules avec acétamide à l'obscurité. . . . .   | 142 <sup>m</sup> gr,1 |
| Plantules avec asparagine à l'obscurité . . . . . | 142 <sup>m</sup> gr,3 |

Si l'on compare le taux des albuminoïdes dans les graines originelles et dans les plantules germées, on constate une diminution notable en corps protéiques, phénomène du reste bien connu et dû aux mutations de ces substances lors de la germination.

D'autre part, les plantules maintenues à l'obscurité pendant cinq jours ont perdu une quantité notable d'albuminoïdes (156<sup>m</sup>gr,7 — 142<sup>m</sup>gr,2), et il est peu probable qu'à côté de ce phénomène de régression, il ait pu se produire des corps albuminoïdes nouveaux aux dépens des substances amidées introduites dans le milieu de culture. C'est du reste ce que confirme le chiffre relatif à la culture de l'expérience suivante placée à l'obscurité : 145<sup>m</sup>gr,4.

Au contraire, les plantules alimentées avec l'acétamide et surtout la formiamide et l'asparagine, exposées à la lumière, ont été incontestablement l'objet d'une production d'albuminoïdes qui a compensé les phénomènes de métabolisme. Le fait est surtout frappant pour l'asparagine.

Il faut conclure que, chez la Moutarde, les corps amidés ne peuvent engendrer des albuminoïdes qu'à la lumière,

**Expérience IX.**

*Quels sont les rayons qui prédominent dans la synthèse des substances albuminoïdes chez la Moutarde blanche?*

Lors de la mise en train de l'expérience précédente, nous avons préparé cinq lots de 5 grammes de Moutarde blanche dans lesquels on introduisit le 7 août, en même temps que les sels minéraux nutritifs, 1‰ de nitrate de potassium. Le même jour, une culture fut placée à l'obscurité; une autre à la lumière sous cloche incolore; une troisième sous une solution de sulfate de cuivre ammoniacal contenue dans une cloche à parois doubles de Sachs; une quatrième culture fut introduite sous une même cloche avec la solution de bichromate de potassium; enfin, la cinquième culture se trouvait sous une cloche analogue avec sulfate de quinine.

Le tout fut conservé dans les mêmes conditions jusqu'au 11 août; durant cette période, la lumière fut, comme nous l'avons déjà dit, relativement modérée.

Le dosage des albuminoïdes a donné les résultats suivants :

|  |                      |
|--|----------------------|
| Plantules témoins (de l'expérience précédente). . . . .                      | 156 <sup>mg</sup> ,7 |
| Plantules avec nitrate à l'obscurité . . . . .                               | 143 <sup>mg</sup> ,4 |
| Plantules avec nitrate à la lumière . . . . .                                | 172 <sup>mg</sup> ,3 |
| Plantules avec nitrate sous la solution de sulfate de cuivre. . . . .        | 158 <sup>mg</sup> ,9 |
| Plantules avec nitrate sous la solution de bichromate de potassium . . . . . | 151 <sup>mg</sup> ,4 |
| Plantules avec nitrate sous la solution de sulfate de quinine. . . . .       | 146 <sup>mg</sup> ,8 |

Dans l'appréciation de la valeur du gain d'albumi-

noïdes produits pendant la durée de l'expérience, il convient de se fonder non pas sur le chiffre (156<sup>mg</sup>,7) indiqué pour le témoin, mais bien sur celui (143<sup>mg</sup>,4) qui correspond au taux de matières protéiques observé dans la culture maintenue à l'obscurité.

En effet, l'assimilation réalisée aux dépens des nitrates a dû compenser la perte provoquée par les phénomènes de désassimilation.

Cette remarque faite, on peut comparer les chiffres obtenus et en tirer la conclusion appropriée :

La synthèse des albuminoïdes, très active à la lumière complète, est surtout favorisée par la portion la plus réfrangible du spectre et particulièrement par les rayons ultra-violets.

Ces résultats confirment et complètent ceux indiqués, dès 1896, par E. Laurent, E. Marchal et E. Carpiaux (1). Ces auteurs avaient constaté la prépondérance des rayons les plus réfrangibles dans la production de combinaisons azotées aux dépens de l'azote nitrique et ammoniacal, mais sans distinguer la nature de ces combinaisons.

**Expérience X.**

*Les feuilles sont-elles, pendant la nuit, le siège d'une production de substances albuminoïdes?*

Divers auteurs, et particulièrement Kosutany (2), supposent que la production des albuminoïdes peut se continuer pendant la nuit. C'est là cependant une opinion

(1) *Loc. cit.*, p. 857.

(2) *Loc. cit.*

assez discutable, étant donnée l'action de la lumière sur ce phénomène chez les plantes supérieures.

L'expérience suivante a été entreprise dans le but de nous assurer de la variation du taux des albuminoïdes dans les feuilles après le coucher du soleil.

Le 23 septembre 1902, à 6 heures du soir, on découpe sur cinq pieds de *Nicotiana glauca* cultivés en pots et exposés pendant deux jours à une radiation assez vive des moitiés de limbes inférieurs, de façon à obtenir 50 grammes de poids frais. On dessèche aussitôt à l'étuve.

Six heures plus tard, c'est-à-dire à minuit 30 minutes, on enlève les autres moitiés des mêmes feuilles, en ne laissant que les nervures médianes; on obtient ainsi 50 grammes de tissus verts soumis immédiatement à la dessiccation.

Il convient de remarquer que les plantes en question restèrent la nuit dans le laboratoire, où la température a varié de 16° à 18°.

On a dosé l'azote sous forme nitrique, l'azote amidé et l'azote albuminoïde.

|  | Azote total<br>en<br>milligrammes | Azote nitrique<br>en<br>milligrammes. | Azote amidé<br>en<br>milligrammes. | Azote<br>albuminoïde<br>en<br>milligrammes. |
|--|-----------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---|
| Feuilles enlevées à 6 heures<br>du soir. . . . . | 152,6                             | 0,0                                   | 10,6                               | 142,0                                       |
| Feuilles enlevées à 12h30<br>(0h30) . . . . .    | 148,5                             | 4,1                                   | 5,1                                | 142,3                                       |

De cette expérience, qu'il sera nécessaire de répéter avant de conclure d'une façon définitive, il résulte que dans le *Nicotiana glauca*, les albuminoïdes ne se forment pas à l'obscurité aux dépens des produits diurnes de l'assimilation. Il y a aussi, pendant la nuit, une diminution des combinaisons amidées par suite de leur migration.

L'absence d'azote nitrique à la fin du jour s'explique par la réduction des nitrates sous l'action de la radiation. Au contraire, la nuit, les phénomènes d'absorption par les racines se continuant, il y a apport dans les feuilles d'un peu de nitrate, qui, faute de lumière, n'est pas assimilé.

#### CONCLUSIONS.

Chez les diverses espèces de plantes supérieures qui font l'objet de ces recherches : plantules de Cresson alénois (*Lepidium sativum*) et de Moutarde (*Sinapis alba*), bourgeons de Chicorée (*Cichorium Intybus*), tiges de Poireau (*Allium Ampeloprasum* var. *Porrum*), d'Asperge (*Asparagus officinalis*), de Moutarde blanche (*Sinapis alba*), de Mélilot blanc (*Melilotus albus*), feuilles de *Nicotiana glauca*, fleurs de Lilas Varin (*Syringa persica* var.), il n'y a production incontestable de matières albuminoïdes aux dépens de combinaisons azotées minérales qu'à la lumière et dans les organes à chlorophylle.

D'après cela, voici l'état actuel de la question de l'assimilation de l'azote par les végétaux :

1° L'azote libre est assimilé par des organismes infé-

rieurs à l'état de vie autonome : *Clostridium Pasteurianum*, Bactéries diverses, Nostocs (?), *Rhizobium* cultivé avec sucre, ou en symbiose avec des plantes vasculaires (*Rhizobium* et Léguminees).

2° L'azote ammoniacal est assimilé par les plantes inférieures (Bactéries, Moisissures,...) privées de chlorophylle et sans l'intervention de radiations lumineuses. Chez les plantes vertes, ce phénomène peut avoir lieu à l'obscurité comme à la lumière, dans les tissus verts et dans ceux qui sont privés de chlorophylle; mais il est plus actif à la lumière dans les uns et les autres.

3° L'azote nitrique peut aussi être assimilé à l'obscurité par les organismes inférieurs privés de chlorophylle. Chez les plantes vertes, à part quelques exceptions (*Panicum*, graines en germination pourvues de réserves), l'assimilation des nitrates est beaucoup plus intense dans les feuilles vertes exposées à la lumière, surtout aux rayons les plus réfrangibles.

4° Lorsque de l'azote libre, de l'ammoniaque ou de l'acide nitrique sont assimilés à l'obscurité, il y a consommation de substances hydrocarbonées, qui fournissent l'énergie nécessaire aux travaux de réduction (nitrates) et de synthèse.

5° Les plantes inférieures non vertes peuvent exécuter la synthèse complète des substances albuminoïdes à l'obscurité. Ici encore, il y a utilisation d'énergie chimique empruntée aux combinaisons organiques.

6° Chez les plantes vertes, — et nous visons surtout les plantes supérieures, — cette synthèse n'a lieu qu'à la lumière.

Toutefois, des corps amidés en quantité limitée peuvent prendre naissance dans les organes privés de chlorophylle (graines en germination), même à l'obscurité. D'autre part, l'apport de certaines substances amidées (asparagine, glutamine) et de matières sucrées appropriées peut être suivi d'une production de corps albuminoïdes à l'obscurité. Mais dans l'état actuel de nos connaissances, il semble que la transformation d'acide nitrique ou d'ammoniaque en substances albuminoïdes chez une plante supérieure adulte, exige l'intervention de la lumière.

\* \* \*

L'assimilation de l'anhydride carbonique par les végétaux présente une remarquable unité. A l'exception de très rares organismes (Bactéries de la nitrification), qui peuvent réduire ce corps sans lumière et sans chlorophylle, il y a toujours utilisation de la radiation solaire pour transformer le gaz carbonique et l'eau en combinaisons organiques.

Dans ce phénomène, l'évolution paraît avoir suivi, à peu près exclusivement, une méthode unique. Au contraire, elle témoigne de variations diverses dans l'assimilation de l'azote, qui, du reste, s'offre aux végétaux sous des formes utilisables plus nombreuses.

Tantôt l'énergie solaire a été employée. C'était là un moyen vers lequel devaient tendre les êtres vivants

chargés des travaux de synthèse de la matière organique.

Mais tout un groupe de végétaux, cependant tributaires des hydrates de carbone parce que privés de chlorophylle, sont aptes à consommer l'ammoniaque et l'acide nitrique. Ils ont pu adopter un tel mode d'alimentation azotée parce qu'ils disposaient d'une réserve d'énergie sous forme de matière hydrocarbonée.

Parmi les végétaux à chlorophylle, la même indépendance se retrouve jusque chez les types les plus élevés et dans les organes les mieux adaptés à l'absorption de la radiation. On en voit qui transforment les sels minéraux en combinaisons organiques azotées plus ou moins complexes en l'absence de la lumière.

Il n'en est pas moins vrai que, dans les conditions de vie normale, la synthèse des substances albuminoïdes est doublement dominée par la radiation solaire : celle-ci est d'abord nécessaire à la formation des corps sucrés, puis à leur transformation en ces groupements moléculaires qui sont la base de la vie.

Si l'on néglige des organismes tout à fait exceptionnels, on peut affirmer que partout où, à l'abri de la lumière, des êtres vivants construisent des substances organiques azotées plus complexes que leur aliment, il intervient une étincelle métamorphosée de l'énergie solaire.

*Contribution à l'étude de la cellule folliculaire des glandes génitales des Gastéropodes; par C. De Bruyne, chargé de cours à l'Université de Gand.*

La littérature de l'ovogenèse et de la spermatogenèse est des plus encombrées, car, depuis longtemps déjà, de nombreux anatomistes en ont fait l'objet de leurs recherches chez des représentants de toute la série animale. La chose s'explique, d'abord par la complexité très grande de ces processus, ensuite par le haut intérêt ontogénétique et phylogénétique qui s'y attache.

Malgré la productivité étonnante de l'anatomie sur ce terrain, de nombreux détails attendent encore une explication définitive, car les résultats obtenus dans la série diffèrent parfois notablement, et les conclusions qu'ils ont fait naître, même quand ils coïncidaient entre eux, sont loin d'être concordantes. C'est ainsi que le doute plane encore, par exemple, au sujet de la constitution théorique d'une glande génitale; du degré de parenté qui relie entre eux les éléments d'un épithélium séminal ou ovaire; de l'origine de chacun d'eux; de leur indépendance — ou dépendance — réciproque et relative; de leur homologie : a) dans la série; b) dans les deux sexes; de l'analogie ou de la différence de leurs fonctions respectives; de leur évolution, etc.

Dans une série de publications (1), j'ai exposé les

(1) C. DE BRUYNE, *Sur l'intervention de la phagocytose dans le développement des Invertébrés* (Mémoire couronné par la Classe des sciences de l'Académie royale de Belgique, 1896). — *Cellules doubles* (Communi-

ACADÉMIE ROYALE DE BELGIQUE

---

BULLETINS

DE LA

CLASSE DES SCIENCES

---

1903



BRUXELLES

HAYEZ, IMPRIMEUR DE L'ACADÉMIE ROYALE DE BELGIQUE  
Rue de Louvain, 412

---

1903

