

Bibliothèque numérique

medic@

Lutz, Louis. - Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique (amines ou alcaloïdes)

1897.

Cote : BIU Santé Pharmacie Prix Gobley 1897-2



Licence ouverte. - Exemplaire numérisé: BIU Santé (Paris)

Adresse permanente : http://www.biusante.parisdescartes.fr/histmed/medica/cote?pharma_prix_gobleyx1897x02

Prix Gobley
1897(2)

Université de Paris
Ecole sup^{re} de Pharmacie

Concours pour le prix Gobley
1897

Recherches sur la nutrition des Végétaux
à l'aide de substances azotées de nature organique
(Amines et alcaloïdes.)



par

L. Lutz,

Commissaire

Pharmacien de 1^{re} Classe - Licencié en sciences naturelles,
Préparateur à l'Ecole sup^{re} de Pharmacie (micrographie)
Vice-Secrétaire de la Société botanique de France,
etc.

ÉCOLE SUPÉRIEURE
DE
PHARMACIE
DE
PARIS

Laboratoire de Micrographie

Paris, le 28^e Juin 1897

28 JUN 97

Monsieur le Directeur
de l'Écol sup^e de Pharmacie,

J'ai l'honneur de solliciter de
votre haute bienveillance l'autorisa-
tion de consacrer pour le *procès-verbal*
(1897) et à cet effet je dépose
au Secrétariat un *manuscrit*
intitulé :

à Recherches sur la nutrition des

(dm) 0 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5

« végétaux à l'aide de substances azotées
de nature organique, (amines et al-
calcoïdes »

Meilly, je vous prie, Monsieur le
Directeur, agréer l'assurance de mes
sentiments respectueux & dévoués,

L. G. Hubert

Département de micrographie.

Recherches sur la nutrition des végétaux
à l'aide de substances azotées de nature organique.
(Amines et alcaloïdes).

Introduction.

Farmi les questions de physiologie végétale qui ont occupé au plus haut point l'attention des savants, celle de la nutrition azotée des différentes plantes, supérieures ou inférieures, tient une place des plus importantes.

Nombre d'auteurs ont dirigé leurs recherches vers la question si complexe de l'assimilation de l'azote, mais la plupart de travaux ne visent que les deux ordres de faits suivants:

1. Fixation de l'azote provenant des nitratés;
2. Fixation directe de l'azote atmosphérique, soit par les plantes, soit par les microorganismes, soit par le sol.

Dans ce dernier ordre d'idées, je mentionnerai d'une façon toute spéciale, outre les mémoires de Boussingault (1) et de Georges Ville (2) qui ont ouvert la question, les belles recherches de M. Berthelot (3) sur la fixation de l'azote par la terre végétale, dans laquelle l'auteur constate que cette fixation n'a lieu qu'à la suite d'une action microbienne.

Ces travaux ont ouvert une voie nouvelle dans laquelle se sont succédées les recherches de Hellriegel (4), Hellriegel et

1. - Boussingault. - Ann. Ch. (2), t. IXVII, 1838, p. 5. - id. (3), t. XLII, p. 5. - id. (3) t. XLIII, p. 149. - Agronomie, t. I, p. 983.
2. - Georges Ville. - Recherches expérimentales sur la végétation, Paris, 1859. - CR, t. XXXI, p. 571. - id. t. XXXV, pp. 444, 650. - id. t. XXXVIII, pp. 705, 723. - Ann. Ch. (3), t. XLIX, p. 168.
3. - Berthelot. - Sur la fixation de l'azote atmosphérique sur la terre végétale, Ann. Ch. (6) t. XIII, p. 5. - Ann. Ch. (6), t. XIV, p. 473.
4. - Hellriegel. - Landw. Versuchs. Stat., t. XXXIII, p. 464.

Willfarth (1), Lawes et Gilbert (2), Frank (3), Barthelot (4),
Schlesing fils et Laurent (5), Winogradsky (6), Noble et Hillner (7).

La résultante de ces divers mémoires est ce fait, actuellement hors de
doute, que l'azote libre peut être directement fixé par certaines plantes,
particulièrement par les légumineuses, mais seulement avec le concours
d'une action microbienne. Il se trouve également que les microorganismes
peuvent être les agents de la fixation de l'azote atmosphérique sur le
sol lui-même.

La constatation de ces divers faits présente une importance capitale,
car elle rend compte de précautions à observer pour faire une culture
de plantes en vue d'y étudier l'assimilation de l'azote, si l'on veut
se mettre à l'abri des causes d'erreur.

D'autre part les travaux de Brial (8), Frank (9), Schlesing
fils et Laurent (10), Kossowitch (11), Koch et Kossowitch (12), montrent
que les Algues peuvent aussi opérer une fixation d'azote, mais seule-
ment lorsqu'elles vivent en symbiose avec certaines bactéries du sol.

Il y a donc là encore un écueil à éviter dans les cultures.

Quant à l'étude de la nutrition des végétaux à l'aide de
matériaux azotés puisés dans le sol, le nombre de mémoires est
très important, mais la plupart ne s'occupent que de l'azote minéral.

La nutrition à l'aide de substances organiques n'a donné lieu
qu'à un petit nombre de travaux parmi lesquels il convient de signaler
les suivants :

Georges Ville (13) remarque que les végétaux peuvent assimiler les chlor.

1. - Hillner et Willfarth. - Beilagechrift zu der Zeitschrift des Vereins f. d. Bienenzucht
industrie, 9.ii.1877, p. 224.
2. - Lawes et Gilbert. - Jahrb. f. Agrik. Chem. t. VIII, p. 29. - Proc. Roy. Soc., t. XVI, 1874, p. 97.
3. - Frank. - Recherches sur la nutrition azotée en plantes, Landw. Jahrb. t. XVII, 1872, p. 24.
4. - Barthelot. - Ann. Ch. (6), t. XIII, p. 413. - Ibid. (6) t. XXX, p. 441.
5. - Schlesing fils et Laurent. - Ann. Institut Pasteur, t. VI, p. 65.
6. - Winogradsky. - C.R. t. CXVI, p. 1385. - Ibid., t. CXVIII, p. 355. - Arch. Soc.
Sci. St. Pétersbourg t. III, 1891, n. 24.
7. - Noble et Hillner. - Landw. Versuchsst. t. XLIV, p. 135.
8. - Brial. - Observations sur le genre Cyanosira, Ann. agr. 1886, 12, p. 347.
9. - Frank. - Jahrb. f. Agrik. Chem., t. XII, p. 49.
10. - Schlesing fils et Laurent. - Ann. Inst. Pasteur, t. VI, p. 294.
11. - Kossowitch. - Bot. Zg. 1892, 43, 47. - Fortschritt über die Frage ob die Algen für die Stickstoff fixation,
Bot. Zg., 1894, 97.
12. - Koch et Kossowitch. - Bot. Zg. 1893, n. 21 p. 321.
13. - G. Ville. - Essais sur la végétation, l'état moléculaire du corps, C.R. t. LXXX, p. 464.

hydrates d'éthylamine et de méthylamine qui, à quantité égale l'azote produiraient sur la végétation, autant l'effet que le chlorhydrate d'ammoniaque. Mais les expériences de Villo ont été effectuées à une époque où l'industrie n'avait pas réussi à préparer à l'état de pureté absolue les produits qu'il employait, et d'autre part, on ne connaissait que l'une manière fort imparfaite le rôle des microorganismes, contre lesquels il n'a pris aucune mesure. Ces expériences ne présentent donc pas la rigueur scientifique nécessaire.

Frank (1) s'occupe de la nutrition, à l'aide de l'urée, de l'acide urique, de l'acide hippurique, de Glycolle, de la Créatine, de la Leucine, de la Tyrosine, de la guanine, de l'asparagine et de certains alcaloïdes. Il constate en particulier que ces dernières substances ne sont pas assimilables.

À partir de quelques observations, on s'accordait, jusqu'à ces dernières années, à admettre que, pour que l'assimilation des substances azotées organiques ait lieu, il fallait que ces substances subissent au préalable une série de fermentations organiques pour effet de les transformer d'abord en sels ammoniacaux (fermentations ammoniacales), lesquels étaient à leur tour transformés par le fermenit nitrique en nitrates directement assimilables.

C'est que très récemment que M. Müntz a constaté que les sels ammoniacaux pouvaient être directement assimilés par la plante sans avoir besoin de subir une nitrification préalable.

C'est l'état de la question lorsque je résolus de rechercher si les composés organiques formaient la classe des amines et celle des alcaloïdes étaient susceptibles d'être assimilés par la plante, et si leur assimilation pouvait avoir lieu directement, sans fermentation préalable, ainsi que M. Müntz l'avait constaté pour les sels ammoniacaux.

1. - Frank. - La statistique de l'hygiène en agriculture, Landw. Jahrb. 1888, p. 421; trad. compl. par Ann. de l'ap. française et étrang. 1888, 2^e sem. p. 28.
2. - Müntz. - Sur le rôle de l'ammoniaque dans la nutrition, in vég. et aux. - CR. t. CIX, p. 686.

Chapitre 1^{er}.

Nutrition des Phanérogames.

Expériences préliminaires.

Dans ces expériences préliminaires, je me suis proposé de chercher si, dans les conditions ordinaires de culture, les plantes étaient susceptibles de puiser leur azote dans les substances organiques ajoutées au gazon ou au compost, puis de chercher si ces substances avaient subi une transformation spéciale lors de leur absorption.

Je me réservais, au cas où ces premières expériences me donneraient des résultats positifs, d'instituer des expériences définitives, en prenant des précautions spéciales, en vue de me mettre à l'abri de tout action microbienne soit favorable d'azote, soit productrice de fermentation.

1^{re} Expérience.

Cette première expérience a été exécutée à l'aide de semences de *Cucurbita maxima* que je me suis proposé de faire pousser dans un sol contenant de l'azote à l'état de sel de triméthylamine.

Cette dernière substance m'a été gracieusement offerte par mon excellent ami Delépine à l'état chimiquement pur et bien exempt de Sammarique et de autres méthylamines. On sait, depuis le travail de Delépine, que l'aldéhyde formique constitue un moyen aussi élégant que rapide et précis d'arriver à ce résultat.

Les semences de *Cucurbita* ont été triées et échauffées soigneusement, puis divisées en deux lots, l'un réservé pour l'analyse, l'autre pour la culture.

Les grains de ce dernier lot ont été plantés dans un sol siliceux, lavé et calcaire au moment de l'expérience, et contenu

dans un pot également calcaire. Le sable a été humecté avec le liquide suivant, modification de l'engrais proposé par M. Gerard (de Lyon)

Biphosphate d'ammoniaque	2	Sulfate de magnésium	2,50
Chlorure de potassium	0,25	" " de manganèse	0,10
Sulfate de Chaux	0,50	Chlorhydrate de triméthylamine	3
" " de fer	0,50	Eau distillée (excepté d'ammoniaque)	1000.

— L'autre lot a été séché à l'étuve, puis pesé et analysé.

Le poids moyen d'une graine a été trouvé de 0,137 milligr.

Dosage de l'azote total contenu dans une graine avant la germination.

Le dosage a été effectué par la méthode de Dumas.

Plusieurs graines, séchées à l'étuve, ont été pulvérisées soigneusement.

Après séchage à l'extracteur elles ont été analysées.

Poids de substance pulvérisée

170 mg.

Vol. de H_2 recueilli

11 cc. 0

t = 21° 5

Pression atm. 758 mm.

Ensuite le poids de l'azote est

$$p = \frac{11(760 - 17.40)}{760(1 + 0.00367 \times 21.5)} \times 0.001263 = 12 \text{ mg } 8$$

Ceci fait pour une graine pesant sèche 137 mg.

$$P = \frac{12.8 \times 137}{170} = 10 \text{ mg } 3.$$

— Le lot de graines, plantées dans le sable le 28 Mai 1896, a commencé à germer le 3 Juin. L'humidité du sable a été maintenue uniquement à l'aide de la solution nutritive ci-dessus.

Le 2^e Juillet il est fait un échantillon moyen des plantes qui ont séché à l'étuve, puis analysés.

a. — Le poids moyen d'une plante sèche a été trouvé de 0,350 mg.

Ceci représente par rapport au poids sec d'une graine un gain

$$\text{de } 0,350 - 0,137 = 0,213 \text{ mg.}$$

b. — Dosage de l'azote total contenu dans une plante.

Le lot de plantes pulvérisées est séché et pulvérisé. Un échantillon de cette poudre est analysé par la méthode de Dumas à donner les résultats suivants:

Poids substance séchée — 17 mg.
 Vol. à l'Azote recueilli — 8 cc. 0
 $t = 23^{\circ}$ Pression atm. 758 mm.

D'où le poids de l'Azote.

$$p = \frac{8(760 - 23) \times 0,001263}{760(1 + 0,00367 \times 23)} = 9 \text{ mg } 3$$

Ce qui fait pour une plante moyenne pesant à elle 350 mg.

$$P = \frac{9,3 \times 350}{172} = 18 \text{ mg } 9.$$

Soit un gain de l'Azote total de 18,9 - 10,3 = 8 mg 6.

La plante avait donc emprunté au substratum une certaine quantité d'azote qui selon toute probabilité devait provenir du sel de triméthylamine.

— Il s'agissait alors de savoir si ce gain d'azote était dû réellement à de l'azote assimilé ou bien s'il n'était dû qu'à des matières azotées simplement mélangées mécaniquement dans le tissu.

Pour résoudre cette question, j'ai disposé un poids déterminé de poudre de plantes sur un entonnoir taré dont la douille était garnie de coton de verre. J'ai éproué la poudre à l'air bouillonnant, puis l'entoureur a été essoré à la trompe et séché à l'éthère, puis finalement pesé.

Poids de l'entonnoir et du coton de verre — 11 g. 000

— de la poudre mise en expérience — 0 g. 310

— total de l'entonnoir et de la poudre — 11 g. 310

— de l'entonnoir et de la poudre après lavage et séchage: 11 g. 176

Perte — 0 g. 134

Le résidu de poudre resté dans l'entonnoir, soit 176 mg. a été analysé par la méthode de Dumas.

Poids de substance séchée — 0 g. 083

Vol. à l'Azote — 4 cc. 5

$t = 23^{\circ}$ — Pression atm. = 758 mm.

D'où le poids de l'Azote:

$$p = \frac{4,5(760 - 23) \times 0,001263}{760(1 + 0,00367 \times 23)} = 5 \text{ mg } 26$$

Ce qui fait pour la totalité de la poudre analysée (176 mg.):

$$P = \frac{L \cdot 26 \times 176}{83} = 11 \text{ mg } \frac{1}{2}$$

Ceci revient à dire que le poids primitif de poudre non épuisée par l'eau, soit 830 mg. contenait précisément ce poids (11 mg. 1/2) d'azote à l'état de combinaison insoluble.

Il reste une plante pesant 0,730 mg. Contient

$$\frac{11, \frac{1}{2} \times 0,730}{310} = 1 \text{ mg } \frac{1}{6}$$

D'azote à l'état de combinaison insoluble.

Le poids excède encore de $12,6 - 10,3 = 2,3$ mg. Le poids de l'azote total d'un grain. Il y a donc bien un gain d'azote assimilé.

De l'expérience.

Cette première expérience ayant donné des résultats positifs en ce qui concerne l'absorption de la triméthylamine par les plantes et leur faculté s'y végétaler, j'ai entrepris une seconde expérience dans le but de préciser cette absorption et d'établir la forme sous laquelle la triméthylamine était assimilée.

Le problème multiple à résoudre était celui-ci :

- 1° La plante gagne-t-elle de l'azote ?
- 2° S'il y a gain d'azote, la quantité de ce gaz fixée à l'état de combinaison azotée organique par la plante est-elle simplement due à une interposition mécanique de triméthylamine dans les tissus, autrement dit y a-t-il dans le tissu de la plante une quantité de triméthylamine moindre que celle nécessaire pour représenter la totalité de gain d'azote ?
- 3° Y a-t-il eu nitrification de sel de triméthylamine dans le substratum préalablement à son absorption ?
- 4° Y a-t-il eu formation préalable de nitrate dans le tissu même de la plante aux dépens du sel organique, autrement dit la plante est-elle capable par ses propres moyens de transformer l'azote animal en azote minéral ?
- 5° Les sels employés ont-ils subi une fermentation ammoniacale

dans le sol, et par suite étaient-ils transformés en sels ammoniacaux avant leur absorption par la plante?

Pour étudier ces diverses questions j'ai repris un certain nombre de graines de *Cucurbita maxima* provenant du même lot que celle employées pour la première expérience et je les ai mises en expérience de la façon suivante :

— Un premier lot a été planté dans du sable stérile, l'air puis calciné au rouge au moment de l'expérience et contenu dans un pot également calciné au rouge, puis refermé à l'abri de l'air.

Le sable est additionné d'un engrais composé d'après la formule suivante :

a. — Solution mère ne contenant pas d'azote. (1)

Biphosphate de potasse	8	Sulfate de magnésium	2
Chlorure de potassium	1	Sulfate de manganèse	0.40
Sulfate de Chaux	2	Eau distillée (bien exempt d'ammoniaque)	1000
Sulfate de fer	2	"	"

b. — Engrais employé :

Solution mère ci-dessus — 25 cc,

Alcoolat de triméthylamine pur — 0.25.

Le pot est placé sur une table, sur d'une fenêtre, à la température ordinaire, et l'humidité est entretenue à l'aide d'eau distillée bien exempt d'ammoniaque.

— Un deuxième lot a été traité de la façon suivante, afin d'éviter l'action des ferments nitrique & ammoniacal, au cas où ils auraient pu être apportés par l'atmosphère ou même par les graines :

Les graines, lavées soigneusement à l'eau distillée, ont été immergées pendant 5 minutes dans une solution aqueuse

1. — Cette solution mère est une modification à l'engrais complet préparé pour les plantes par M. Gérard, à Lyon... Elle diffère de la formule de l'auteur par l'absence de l'azote et par sa plus grande concentration.

de sublimé à 1/2000 puis plantés tout humides dans du sable calciné avec les précautions indiquées plus haut. Ce sable était renfermé dans un cristalliseur de verre, préalablement lavé au sublimé, et le tout est placé dans une étuve neuve, fermé entièrement au sublimé à l'intérieur. Cette étuve est maintenue à la température ordinaire. Date de l'ensemencement: 22 juillet 1890.

La germination, dans les deux cas, s'est effectuée dans de très bonnes conditions, et le 6 août j'ai ajouté, par voie d'arrobage, dans chacun des pots n° 10 & chlorhydrate de triméthylamine.

Le 11 août deux plants de chaque pot sont prélevés, séchés à l'étuve, pesés et analysés.

a. - Plants ayant poussé à l'air libre, sans traitement préalable par le sublimé.

Poids des deux plants sèches: — Gf. 317

Soit l'un $\frac{0,317}{2} = 158 \text{ mg. } \{$

Ceci représente sur le poids sec de la graine un gain de
 $158,5 - 137 = 21 \text{ mg. } \{$

Dosage de l'azote total (Méthode de Dumas).

Poids de substance prélevée — 133 mg.

Vol. de l'Azote — 9000

$\bar{v} = 22$ pression atm. 750 mm.

G'air sur un litre de poids d'azote.

$$p = \frac{9 \cdot (750 - 19,2)}{760(1 + 0,00367 \times 22)} \times 0,001263 = 10 \text{ mg. } \{$$

Q qui fait pour une plante pesant sèche 158 mg.

$$P = \frac{10,2 \times 158,5}{133} = 12 \text{ mg. } \{$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un gain de
 $12,15 - 10,3 = 1 \text{ mg. } \{$

b. - Plants ayant poussé dans l'étuve et après traitement préalable au sublimé.

Poids des deux plants sèches — Gf. 489

Soit l'un $\frac{489}{2} = 244,5 \text{ mg. } \{$

Ceci représente par rapport au poids sec de la graine un gain de

$$242,5 - 137 = 105 \text{ mgr. } \int$$

Dosage de l'Azote total. (Méthode de Dumas.)

Poids de substance employé ———— 172 mgr.

Vol. de l'Azote recueilli ———— 18 cc. +

C = 22 Pression atm. = 755 mm.

D'où le poids d'Azote.

$$p = \frac{13,1(755 - 19,8)}{760(1 + 0,00367 \times 22)} \times 0,001263 = 14 \text{ mgr. } \int$$

À qui fait pour une plante pesant sèche 242 mgr. \int

$$P = \frac{14,7 \times 242,5}{172} = 20 \text{ mgr. } \int$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un gain de

$$20,7 - 10,3 = 10 \text{ mgr. } \int \text{ par plante.}$$

— Les plantes contiennent-elles dans leurs tissus de l'azote nitrique ?

Pour résoudre cette question, j'ai prélevé un échantillon de la poudre des plantes de chacun des deux lots. Cet échantillon a été épuisé par l'eau bouillante et le tout jeté sur une filtre Berzelius lavé soigneusement à l'eau distillée et essoré à la trompe.

Le liquide filtré est ensuite essayé par la méthode de Schloesing par le dosage de l'azote nitrique à l'état de bioxyde d'azote.

Les poids essayés ont été de :

140 mgr. pour le lot ayant poussé à l'air libre et de

302 mgr. pour le lot ayant poussé dans l'étuve.

Il a été dans les deux cas recueilli 30 cc. de colature qui ont été analysés :

Dans aucun des deux cas il ne s'est dégagé la moindre trace de bioxyde d'azote.

Donc il n'y avait dans les plantes aucune trace d'azote nitrique.

— Y a-t-il eu nitrification de la triméthylamine dans le sol préalablement à son absorption par les plantes ?

J'ai fait cette recherche de la façon suivante :

J'ai prélevé deux échantillons copieux des sols, que j'ai épuisés

par l'irradiation au moyen d'un bichlorure. J'ai ensuite essayé la liqueur par la méthode de Schloesing. Je n'ai pas recueilli la moindre trace de bruyère d'azote. Il n'y avait donc pas eu nitrication dans le sol.

— L'Azote contenu dans les plantes était-il dû à de la triméthylamine introduite par osmose dans les tissus sans y avoir subi de modification, ou bien y était-il partiellement à l'état de combinaison d'une nature différente?

1^{re} Expérience. — Cette expérience a été faite le 20 Août sur le lot de plantes ayant servi à l'étude.

Je me suis fondé sur ce fait que les sels de méthylamines et d'éthylamines (le premier terme de la série), traités par la potasse laissent dégager leur azote à l'état d'ammoniaque absolument comme les sels ammoniacaux.

J'ai donc opéré de la façon suivante: Dans un ballon muni d'un court réfrigérant à reflux, afin d'éviter l'entraînement mécanique de potasse par la vapeur d'eau, j'ai introduit un poids déterminé de plantes fraîches broyées avec de l'eau distillée, et de la potasse caustique, et j'ai porté le tout à l'ébullition.

Les gaz sont recueillis dans une solution titrée d'acide sulfurique. Lorsque tout le gaz ammoniac a fini de se dégager, un nouveau titrage de l'acide sulfurique permet de connaître la quantité d'ammoniaque dégagée & par suite la quantité de triméthylamine contenue dans les plantes.

Expérience. — Plantes fraîches pesant 7 gr. 320 sont bichlorurées en présence de potasse. Les gaz sont recueillis dans 10 cc. d'une solution normale d'acide sulfurique contenant 49 gr. d'acide monohydraté par litre. Le titrage final est fait à l'aide d'une solution de potasse telle que 10 cc. d'acide sulfurique normal (à 49 g. par litre) exigent pour être saturés 277 divisions d'une burette (en 1/10 de cc.) de solution de potasse.

Après dégagement complet de l'ammoniaque la solution sulfurique a été additionnée d'une goutte de phthaléine en phénol et titrée à nouveau à l'aide de la solution de potasse.

Il a fallu 277 div. de la burette pour obtenir la saturation.

Comme 277 div. de la burette correspondent à 10 cc. d'acide normal

$$277 \text{ div.} \quad \text{---} \quad \frac{10 \times 278}{277} \text{ cc.}$$

Et comme 10 cc. d'acide sulfurique normal contiennent 0g. 49 d'acide monohydraté

$$\frac{10 \times 278}{277} \text{ cc.} \quad \text{---} \quad \frac{0,49 \times 10 \times 278}{277} =$$

0g. 4864 d'acide monohydraté.

Il y a donc eu $0,49 - 0,4864 = 0g. 00356$ d'acide sulfurique saturé par l'ammoniaque.

Le poids d'ammoniaque correspondant est par suite $\frac{3,6 \times 17}{17} = 1 \text{ mgr. } 27$

Ce qui correspond à $\frac{1,2 \times 14}{17} = 1 \text{ mgr. } 03$ d'azote.

Une plante de poids moyen de $\frac{2,320}{3} = 2g. 44$ contient donc $\frac{1,03}{3} = 0 \text{ mgr. } 343$ d'Azote à l'état de triméthylamine.

Pas eût une plante de poids de $2g. 11$ (poids moyen frais d'une plante analysée pour l'Azote total) en contiendrait $\frac{0,343 \times 3,11}{2,44} = 0 \text{ mgr. } 437$ à l'état de triméthylamine.

Il y a donc eu un gain réel d'Azote assimilable de $10,4 - 0,437 = 9 \text{ mgr. } 963$.

2^e expérience. — Ne pouvant faire cette seconde sur la même lot que quelques jours plus tard, j'ai ajouté le 30 Août à ce pot par voie d'arroage 1/2 centigrammes de chlorhydrate de triméthylamine et 2/3 centim. cubes de la solution, même sur azote signalé plus haut.

Le 30 Août, j'ai refait les mêmes essais que précédemment sur les plantes de ce lot, pour rendre les résultats comparables, j'ai procédé à un nouveau dosage de l'Azote total.

Dosage de l'Azote total (Méthode de Dumas). —

Deux plantes sèches pesant 2g. 11, soit 2g. 077 l'une, ont donné en poids sec 277 mgr., soit pour une plante $\frac{277}{2} = 138 \text{ mgr. } 5$.

Il y a donc eu un gain de substance sèche de $138,5 - 128 = 10 \text{ mgr. } 5$.

Poids de substance séchée — 110 mgr.

Vol. d'Azote — 9 cc 0

C = 11° Or. atm. 769 mm.

D'où l'on tire le poids d'azote:

$$p = \frac{9(769 - 12.7)}{769 + 0.00367 \times 11} \times 0.00125 = 10 \text{ mg } \text{S}$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 187 mg S

$$P = \frac{10.58 \times 187.5}{10} = 13 \text{ mg. } \text{225}$$

Il y a donc en un grain d'azote total par rapport à l'azote initial de la graine de

$$13.225 - 10.3 = 2.925 \text{ mg } \text{S}$$

Dosage de l'Azote à l'état de triméthylamine. — Cet essai n'a pu porter que sur une seule plante pesant 1 g. 160.

La solution de potasse employée est telle que 276 cc. de la burette saturent exactement 10 cc. d'acide sulfurique normal à 19 gr. par litre.

La plante a été traitée par la potasse comme il est dit plus haut, et les gaz recueillis dans 10 cc. d'acide sulfurique normal.

Du titrage final il a fallu, pour saturer les 10 cc. d'acide, 276 divisions (un peu plus) de la burette. Il n'y a donc dans les plantes de second lot que des traces d'azote à l'état de triméthylamine.

— S'il s'agit-il produit dans le sol une fermentation ammoniacale dont l'effet aurait été la transformation en sel ammoniacal du chlorhydrate de triméthylamine employé?

Le seul procédé applicable pour la recherche des sels ammoniacaux, en présence d'amines ou de sels d'amines consiste dans l'emploi du réactif de Nesbitt. Cet essai, quoique qualitatif, n'en est pas moins d'une grande précision, étant donnée la sensibilité du réactif qui, en présence de traces d'ammoniaque ou de sels ammoniacaux donne un précipité rouge brique, tandis qu'avec les amines il ne donne pas de précipité (termes inférieurs de la série) ou bien un précipité blanc ou jaune pâle (termes supérieurs).

L'expérience consistait donc à lixivier le sol avec de l'eau distillée bien exempte d'ammoniaque et à essayer par le réactif de Nesbitt le produit de la lixiviation.

Or, dans ces conditions, je n'ai obtenu aucun précipité par le réactif de Nesbitt. Le sol & par suite le sol de triméthylamine

n'avait donc pas subi de fermentation ammoniacale antérieurement à son assimilation par la plante.

En résumé. — Ces expériences préliminaires ont montré que des plantes, placées dans un milieu nutritif agoté à base de triméthylamine, étaient incapables d'assimiler l'azote sous cette forme.

Cette assimilation avait eu lieu directement, sans transformation préalable dans le sol ou la plante, sans l'influence d'une fermentation nitrique ou ammoniacale.

Restait à préciser ~~est~~ les conditions de cette assimilation en se mettant à l'abri des causes d'erreurs provenant d'agents extérieurs, et à étendre ces recherches à toute la série des amines et des alcaloïdes. Ces recherches font l'objet de la seconde partie de ce chapitre.

Expériences définitives.

Avant d'entreprendre mes expériences définitives j'ai commencé par faire choix de plantes sur lesquelles je ferais mes recherches. Il fallait en effet des plantes qui ne fussent pas des Légumineuses, puisque ces plantes fixent l'azote atmosphérique; il fallait en outre que ces plantes aient de grandes et grosses graines que l'échantillon ne se fît facilement avec exactitude et que leur croissance fût rapide afin de diminuer les chances de contamination du sol.

Je me suis arrêté aux plantes suivantes:

Cucurbita maxima; *Lea Mais*; *Cucumis prophetarum*; *Helianthus annuus*; *Spergularia purpurea*; *Cnicus benedictus*.

J'ai commencé par en faire l'analyse.

A cet effet j'ai choisi 10 graines à chaque espèce, prises aussi moyennes que possible dans un lot de graines fournies uniquement par une seule plante. De la sorte, les graines qui seront plantées ensuite subviendront aussi exactement que possible la même comparaison que le type analysé.

J'ai déterminé le poids sec moyen d'une graine et sa teneur en azote total.

Tous mes dosages d'azote ont été effectués par la méthode de Dunan. Voici les résultats donnés par l'analyse des graines.

Analyse des graines.

I. - *Cucurbita maxima*.

L'analyse des graines a été donnée en détail dans les expériences préliminaires. Je rappelle seulement les résultats:

Poids moyen sec d'une graine	197 mg.
Azote total contenu dans une graine	10 mg. 3.

II. Zea Mays

La variété de Maïs que j'ai utilisée pour ces recherches est celle que l'on désigne en agriculture sous le nom de Maïs Blanc.

1. Poids sec de 10 grains — 1g. 345

Soit l'un $\frac{1,345}{10} = \underline{134 \text{ mgr. } 5.}$

2. Dosage de l'azote total. — Les 10 grains séchés ont été pulvérisés et, après séjour à l'essiccateur, analysés par la méthode de Dumas.

Poids de substance séchée — 238 mgr.

Vol. d'Azote recueilli — 7cc. 0

$t = 18^{\circ}$ — Pression atm. 771 mm.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{7(771 - 760)}{760(1 + 0,00367 \times 18)} \times 0,001263 = 8 \text{ mgr. } 03$$

Ce qui fait pour une grain pesant sèche 134 mgr. 5 :

$$\underline{P} = \frac{8,03 \times 134,5}{238} = \underline{4 \text{ mgr. } 3.}$$

III. Cucumis prophetarum.

1. Poids sec de 10 grains — 1g. 32

Soit l'un $\frac{1,32}{10} = \underline{132 \text{ mgr. } 2.}$

2. Dosage de l'Azote total.

Poids de substance séchée — 300 mgr.

Vol. d'Azote recueilli — 19 cc. 0.

$t = 11^{\circ}$ — Pression atm. = 770

D'où l'on tire :

$$p = \frac{19(770 - 760)}{760(1 + 0,00367 \times 11)} \times 0,001263 = 22 \text{ mgr. } 40$$

Ce qui fait pour une grain pesant sèche 132 mgr. 2

$$\underline{P} = \frac{22,40 \times 132,2}{300} = \underline{10 \text{ mgr. } 47.}$$

IV. Helianthus annuus.

1. Poids sec de 10 grains — 638 mgr.

Soit l'un $\frac{638}{10} = \underline{63 \text{ mgr. } 8}$

2. Dosage de l'azote total.

Poids de substance séchée _____ 25 mg.
 Vol. de l'azote recueilli _____ 10 cc. 6.
 t = 13° Pression atm. = 747 mm.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{10,6 (747 - 11,3)}{760 (1 + 0,00367 \times 13)} \times 0,001263 = 12 \text{ mgr. } 37$$

Ce qui fait pour une graine pesant sèche 63 mgr. 8

$$\underline{P} = \frac{12,37 \times 63,8}{25} = \underline{3 \text{ mgr. } 10}$$

V. - *Sponoxia purpurea.*

1. Poids de 10 grains séchés _____ 250 mgr.

Soit l'une $\frac{250}{10} = \underline{25 \text{ mgr.}}$

2. Dosage de l'azote total.

Poids de substance séchée _____ 256 mgr.

Vol. de l'azote recueilli _____ 10 cc. 6

t = 16° Pression atm. = 756 mm.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{10,6 (756 - 13,6)}{760 (1 + 0,00367 \times 16)} \times 0,001263 = 12 \text{ mgr. } 37$$

Ce qui fait pour une graine pesant sèche 25 mgr.

$$\underline{P} = \frac{12,37 \times 25}{256} = \underline{1 \text{ mgr. } 38}$$

VI. - *Oniscus benedictus.*

1. Poids de 10 grains séchés _____ 218 mgr.

Soit l'une $\frac{218}{10} = \underline{21 \text{ mgr. } 8}$

2. Dosage de l'azote total.

Poids de substance séchée _____ 202 mgr.

Vol. de l'azote recueilli _____ 8 cc. 6.

t = 14° Pression atm. = 758 mm.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{8,6 (758 - 12)}{760 (1 + 0,00367 \times 14)} \times 0,001263 = 10 \text{ mgr. } 14$$

Ce qui fait pour une graine pesant sèche 21 mgr. 8 :

$$\underline{P} = \frac{10,14 \times 21,8}{202} = \underline{1 \text{ mgr. } 074}$$

relly

Appareil et modes de Culture.

Ceci posé, il fallait instituer des expériences de telle sorte que l'on fût à l'abri de toute la cause d'erreurs extérieures provenant de l'apport, soit par l'air poussières atmosphériques, soit par l'eau d'arrosage, de matériaux ajoutés ou de ferments susceptibles de fixer sur le sol l'azote atmosphérique.

Pour atteindre ce but je me suis servi de l'appareil suivant.



Un cristalliseur de grandes dimensions renfermant une certaine quantité d'une solution aqueuse de sublimé à $\frac{1}{2000}$. Dans la solution plonge la partie inférieure d'une cloche à double de forme haute portant à la partie supérieure un bouchon de caoutchouc qui donne passage à deux ^{tubes} tubulures dont l'une plonge jusqu'à la partie inférieure de la cloche, l'autre jusqu'à la partie supérieure.

Les deux ^{tubes} tubulures présentent un remplissage garni de coton au sublimé.

Les parois intérieures de la cloche, le bouchon, les tubes et verre, tant à l'extérieur que dans leur intérieur, ont été passés soigneusement au sublimé à $\frac{1}{300}$ et rinçés tout humides sur le cristalliseur. Le coton des tubulures a été également imprégné de cette solution à sublimé à $\frac{1}{300}$.

Dans l'intérieur de la cloche est disposé un cristalliseur paraffiné émergeant de la solution de sublimé. La paraffine a pour but de s'opposer au grimpage de la solution, qui pourrait à la longue exercer sur les plantes un effet nuisible. Néanmoins le cristalliseur a été passé au sublimé à $\frac{1}{300}$ avant d'être introduit humide sous la cloche.

Sur ce cristalliseur sera disposée la culture.

La préparation de celle-ci est l'objet de soins particuliers.

Le pot est en terre et de forme basse (terrine)

Il a été chauffé au rouge et refroidi sous une cloche sur la partie inférieure repose dans une solution de sublimé, et qui a été elle-même passée au sublimé à $1/300$. De la sorte la contamination du pot par les poussières atmosphériques est évitée pendant son refroidissement.

Dans le pot se trouve du sable siliceux lavé, puis calciné au rouge dans le pot et refroidi avec lui sous la cloche.

Le pot contenant le sable n'est retiré de la cloche à refroidir que dans une serre dont l'atmosphère est saturée d'humidité et par suite ne contient pas de moisissures. Cette opération ne s'effectue qu'au moment précis où sera faite la plantation.

L'opérateur, après s'être lavé soigneusement et longuement les mains dans du sublimé à $1/300$, dispose rapidement dans le sable les graines à expérimenter. Ces graines ont séjourné auparavant pendant 5 minutes au moins dans une solution aqueuse de sublimé à $1/2000$, et elles sont plantées, humides encore de cette solution.

On ajoute alors la solution nutritive spéciale à chaque culture qui a été préalablement stérilisée à l'autoclave à 120° , et la quantité nécessaire d'eau distillée rigoureusement exempte d'ammoniac et stérilisée également à 120° .

L'opérateur doit avoir soin de tenir ses mains constamment imbibées de sublimé, opérer aussi rapidement que possible, et ne pas oublier d'affaiblir l'extrémité des fils recouvrant les liquides d'arrosage avant de les déboucher.

Tous les jours l'air de la cloche est renouvelé au moyen d'un propulseur d'air adapté à une tubulure. De la sorte on n'introduit dans la cloche que de l'air privé de germes par son passage sur le coton au sublimé.

L'air introduit a été en outre privé complètement de traces d'ammoniac que'il pourrait contenir.

Les sels utilisés pour ces recherches sont préparés rigoureusement purs.

Un certain nombre m'ont été gracieusement donnés par Delépine, les autres ont été préparés par moi-même par saturation d'ammoniac actétiés garantis purs. Dans le deux cas, les sels obtenus ont été purifiés par plusieurs recristallisations dans l'alcool absolu, afin d'éliminer, entre autres produits, le chlorhydrate d'ammoniaque qui est à peu près insoluble dans l'alcool absolu.

Expériences de Culture.

Ces expériences ont été exécutées avec l'appareil et les précautions que je viens d'indiquer afin d'étendre, avec tous les soins possibles, les résultats donnés par les expériences préliminaires à toutes les ammoniacs que j'ai réussi à me procurer et à un certain nombre d'alcaloïdes.

Lorsque la quantité de plantes recueillies me l'a permis, je me suis livré à plusieurs analyses et les résultats sont alors donnés sous la forme de l'analyse moyenne. Il doit y ailleurs ajouter qu, grâce à la précision de la méthode de Dumas, les écarts obtenus entre deux analyses consécutives ont toujours été extrêmement faibles.

L'analyse des plantes a été suivie, dans tous les cas, d'un essai du sol en vue d'y rechercher s'il avait été le siège d'une fermentation nitrique ou ammoniacale. Les résultats analytiques obtenus avec des plantes dans le substratum avait subi une fermentation, même légère, ont été systématiquement laissés à côté, de façon à me présenter qu'en un ensemble d'expériences aussi rigoureuses que possible.

Voici les résultats obtenus avec les diverses cultures.

Triméthylamine.

La Triméthylamine a été employée à l'état de chlorhydrate, et même sans les expériences préliminaires.

Les recherches ont porté sur les plantes suivantes: Les Maïs, Cucumis prophetarum, Helianthus annuus, Spumacea purpurea.

Maïs.

Le 16 Octobre 1896 j'ai semé, avec les précautions indiquées plus haut, 10 grammes de Maïs dans un sol additionné de l'engrais ci-après, stérilisé au préalable.

Solution mère par ajout 0 — 50 cc.

Chlorhydrate de triméthylamine pur — 0,5 g

Le 27 Novembre j'ai récolté 4 plantes qui ont été séchées à l'étuve, pesées & analysées.

1. — Poids sec des 4 plantes : ——— 648 mg.

Soit $\frac{648}{4} = 162$ mg.

Ceci représente par rapport au poids sec d'une graine un gain de $\frac{162 - 124,5}{124,5} = 27$ mg.

2. — Dosage de l'Azote total.

Poids de substance séchée ——— 228 mg.

Vol. de l'Azote recueilli ——— 6 cc. 9

$\bar{C} = 19^\circ$ Pression atm. = 740

D'où l'on tire :

$$p = \frac{6,9 (740 - 16,4 \bar{C})}{760 (1 + 0,00367 \times 19)} \times 0,001263 = 7 \text{ mg. } 76$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 162 mg.

$$\underline{P} = \frac{7,76 \times 162}{228} = 5 \text{ mg. } 51$$

Ceci représente par rapport à l'Azote initial contenu dans une graine un gain de $\frac{5,51 - 4,8}{4,8} = 0 \text{ mg. } 98$

Soit 22,2 %

— Le sol a été ensuite lavé par de l'eau distillée répétitivement.

(1) — La formule de cette solution mère a été donnée dans les expériences préliminaires.

pur, et le liquide a été essayé au point de vue de la fermentation, nutritive par la méthode de Schloeding et à celui de la fermentation ammoniacale par le lactif de Nessler.

Ces deux essais ont donné des résultats négatifs. La triméthylamine avait donc bien été assimilée sans avoir subi de transformation fixe dans le sol.

Cucumis prophetarum.

Le 16 Avril 1897 j'ai semé avec les précautions habituelles les graines de Cucumis prophetarum dans du sable additionné de l'engrais ci-après :

Solution mère par litre ———— 50cc.

Chlorhydrate de triméthylamine pur 10g.

L'expérience a été arrêtée le 1^{er} Mai. J'ai recueilli 4 plants avec le développement de leurs graines.

1^o — Poids sec de 4 plants ———— 663mg.

$$\text{Soit 1 graine} \quad \frac{663}{4} = 165\text{mg } \frac{7}{8}$$

Ceci représente par rapport au poids sec d'une graine un gain de 165.75 - 13.2 = 152.55mg.

2^o — Dosage de N azote total. —

Poids de substance séchée ———— 197mg.

Vol. d'azote recueilli ———— 12cc. 0

E = 11° ———— St. atm. = 755

D'où l'on tire :

$$p = \frac{12(755 - 12.7)}{760(1 + 0.00367 \times 11)} \times 0.001263 = 14\text{mg } 03$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 197mg 7/8

$$P = \frac{14.03 \times 165.75}{197} = 11\text{mg } 81$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un gain de

$$11.81 - 11.24 = 0\text{mg } 57$$

Le gain est très faible, mais il doit être attribué à une légère altération présente dès la germination par les cotylédons et la

plus tard de grains et sur la conséquence a été la dépense d'une certaine proportion de l'azote initial.

— L'essai du sol au point de vue de fermentation nitrique et ammoniacale a donné des résultats négatifs.

Helianthus annuus.

Le 4 Mars 1897 j'ai semé 40 grains de *Helianthus annuus* dans du sable additionné d'un engrais faisant la même composition que dans les expériences précédentes.

L'expérience a été arrêtée le 3 Avril. J'ai récolté 3 plantes que j'ai soumises à l'analyse.

— 1^o — Poids sec des 3 plantes ——— 360 mgrs.
 Soit l'une $\frac{360}{3} = 120$ mgrs.

Gain sur le poids sec d'une graine:
 $120 - 63,8 = 56,2$ mgrs

Soit par rapport à un poids en grain de 21,08 %.

— 2^o — Dosage de l'azote total.

Poids de substance séchée ——— 200 mgrs.

N^o de l'Azote recueilli ——— 0 cc.

t = 11° Pression atm. = $\frac{764}{760}$ mgrs

D'où l'on tire:

$$P = \frac{P \left(\frac{764}{760} - 1 \right)}{760 (1 + 0,00367) \times 10} \times 0,001253 = 7,64$$

Q qui fait pour une plante pesant sèche 120 mgrs.

$$P = \frac{7,64 \times 120}{200} = 4,58$$

Gain sur l'azote initial de la graine

$$4,58 - 3,40 = 1,18$$

Soit 11,22 %.

— L'essai ultérieur du sol au point de vue fermentations nitrique et ammoniacale a donné des résultats négatifs.

Sponaea purpurea . -

Le 16 Avril 1897 j'ai semé avec les précautions habituelles 10 graines de *Sponaea purpurea* dans du sable additionné ni d'une cupéris de même composition que celui de expériences précédentes.

L'expérience a été arrêtée le 17 Mai. J'ai recueilli 6 plants que j'ai séchés et analysés.

1^o - Poids de 6 plants séchés _____ 287 mgrs.

Soit 1 une $\frac{287}{6} = 47 \text{ mgrs.}$

Gain par rapport au poids sec de la graine

47.5 - 26 = 21 mgrs.

Soit 82.7 %.

2^o - Dosage de l'Azote total. -

Poids de substance séchée _____ 169 mgrs.

Vol. de l'Azote recueilli _____ 6 cc. 0

$\bar{c} = 19^{\circ}$ Pression atm. = 747 mgrs.

D'où par suite

$$p = \frac{6(747 - 16.4)}{760(1 + 0.00367 \times 19)} \times 0.001268 = 6 \text{ mgrs. } 81.$$

Ce qui fait pour une plante séchée 47 mgrs.

$$\underline{P} = \frac{6.81 \times 47.5}{169} = 1 \text{ mgr. } 9/14$$

Gain sur l'Azote initial de la graine:

$$1.9/14 - 1.2/8 = 0 \text{ mgr. } 6/8$$

Soit 9.14 %

Résumé. -

Les expériences qui précèdent concordent entre elles et confirment pleinement les résultats de expériences préliminaires.

Les plants sont susceptibles de puiser leur azote dans la triméthylamine et de l'assimiler sans que ce corps ait eu besoin de subir dans le sol une transformation quelconque.

Diméthylamine.

La diméthylamine employée m'a été donnée par Kellpinn, bien suédois, au moyen de son procédé à l'aldehyde formique, des deux autres méthylamines.

Malheureusement je n'en ai eu en ma possession qu'une assez faible quantité, et, comme me il m'en fallait comme la majeure partie pour mes recherches sur la nutrition des Champignons, je n'ai pu faire qu'une expérience.

Cucurbita maxima.

Le 3 septembre 1896 j'ai semé 10 grains de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais ci-après:

Solution mère sans azote. — 50 cc.

Chlorhydrate de Diméthylamine — 0g.50

L'expérience a été arrêtée le 14 Octobre. J'ai prélevé deux plantes que j'ai séchées et analysées.

1^o — Poids sec des deux plantes. — 490 mgrs.

Soit l'une $\frac{490}{2} = 245$ mgrs.

Gain par rapport au poids sec d'une graine

245 — 172 = 73 mgrs.

Soit $\frac{73}{245} \approx 30\%$ de ce poids initial.

2^o — Dosage de l'Azote total.

Poids de substance prélevée — 117 mgrs.

Vol. d'Azote recueilli — 9 cc.0

$\bar{C} = 11^{\circ}5$ densité air = 742 mgrs.

D'où l'on tire:

$$p = \frac{9(742 - 9.9)}{766(1 + 0.00367 \times 11.5)} \times 0.001263 = 10 \text{ mgrs. } \frac{1}{16}$$

Q qui fait pour une plante pesant sèche 245 mgrs.

$$P = \frac{10 \frac{1}{16} \times 245}{117} = 14 \text{ mgrs. } 060$$

Gain par rapport à l'azote initial de la graine

$$14.000 - 10.3 = 3 \text{ mg. } 766$$

Soit 36.7 % de cet azote initial.

— L'essai de sol n'a donné aucune fumure azotée.

Résumé.

De même que la triméthylamine, la diméthylamine est donc susceptible d'être assimilée par la plante et de servir à sa nutrition, après s'être avil subi dans le sol de transformations possibles.

Monométhylamine.

Pour la même raison que dans le cas de la triméthylamine, je n'ai pu faire qu'une seule expérience.

Cucurbita maxima.

Le 3 Septembre 1896 j'ai semé 10 graines de Cucurbita maxima dans un sol calciné additionné de l'engrais ci-après.

Solution mère sans Azote — 10cc.

Chlorhydrate de monométhylamine — 0.25g.

L'expérience a été arrêtée le 14 Octobre. J'ai alors prélevé deux plantes que j'ai séchées, pesées & analysées.

1. — Poids sec des deux plantes — 445 mg.

$$\text{Soit l'une } \frac{445}{2} = 223 \text{ mg.}$$

Ceci représente par rapport au poids sec d'une graine un gain de $223 - 137 = 86 \text{ mg.}$

Soit 62.7 % de ce poids initial.

2. — Dosage de l'azote total.

Poids de substance séchée — 150 mg.

Vol. de l'azote recueilli — 1 cc. 3

$E = 11$. Pression atm = 743 m_m.

D'où l'on tire.

$$p = \frac{9.3(743 - 9.8)}{760(1 + 0.00367 \times 11)} \times 0.001263 = 10 \text{ mg } 90$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 223 mg.

$$P = \frac{10.90 \times 223}{100} = 10 \text{ mg } 2$$

Gain par rapport à l'état initial d'une graine.

$$16.21 - 10.3 = 5 \text{ mg } 9$$

Soit $\frac{5.9}{10} = 59\%$ de cet état initial.

— L'essai ultérieur au sol n'a donné aucune fem. en atiq.

Résumé.

La monométhylamine s'est conduite vis à vis des plantes comme les deux autres méthylamines : elle est directement assimilable, en tant que source naturelle d'Azote, et cela sans avoir eu à subir de transformation préalable dans le sol.

Diéthylamine.

La diéthylamine employée a été purifiée par recristallisation dans l'alcool absolu. Les expériences ont été effectuées à l'aide de plantes suivantes : Cucurbita maxima, Liza Mai, Cnicus benedictus, Spargano angustifolius.

Cucurbita Maxima.

Le 10 Octobre 1895 j'ai semé 10 grains de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans Azote — 10cc.

Chlorhydrate de Diéthylamine — 0.50

Le 19 Novembre j'ai arrêté l'expérience et recueilli trois plantes destinées à l'analyse.

1^o - Poids sec de trois plants. — 606 mg^s.
 Soit l'une $\frac{606}{3} = 202$ mg^s.

Gain par rapport au poids sec initial d'une pousse.
 $202 - 137 = 65$ mg^s.

Soit $\frac{65}{300}$ environ.

2^o - Dosage de l'Azote total.

Poids de substance séchée — 287 mg^s.

Vol. de l'Azote recueilli — 19 cc. 4

$\theta = 19^{\circ}$ Premier atm = 740

D'où l'on tire :

$$p_2 = \frac{19.4 (740 - 16.4)}{760 (1 + 0.00367 \times 19)} + 1.041263 = 21 \text{ mg } N$$

Q qui fait pour une plante pesant sèche 202 mg^s.

$$P = \frac{21.8 \times 202}{287} = 15 \text{ mg } N$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la pousse un gain de

$$15.3 - 10.3 = 5 \text{ mg } N$$

Soit $\frac{5}{300}$ environ de cet azote initial.

L'essai de sol n'a décelé aucune fermentation.

Lea Maïs.

Le 10 Octobre 1896 j'ai semé 10 grains de Maïs dans du sable additionné d'un engrais composé comme la précédente.

Le 27 Novembre j'ai récolté trois plantes destinées à l'analyse.

1^o - Poids sec de 3 plants — 64 mg^s.

Soit l'une $\frac{64}{3} = 21$ mg^s.

Gain par rapport au poids sec initial d'une pousse.

$$21 - 18.1 = 2.9 \text{ mg } N$$

Soit $\frac{2.9}{300}$ de cet azote initial.

2^o - Dosage de l'Azote total.

Poids de substance séchée — 24 mg^s

Vol. de l'Azote recueilli — 0 cc. 0

$\theta = 18^{\circ}$ Premier atm = 736 mg^s.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{S(1716 - 11.1)}{760(1 + 0.01267) \times 18} \times 0.001263 = 5 \text{ mg. } \frac{24}{100}$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 205 mg

$$P = \frac{S.771}{24} \times 205 = 4 \text{ mg. } 833$$

Gain par rapport à l'azote initial de la graine.

$$4.833 - 4.5 = 0 \text{ mg. } 333$$

Soit 6,7% de ce poids initial.

— L'essai du sol après culture n'a rien d'aucune fumure.

Cnicus benedictus.

Le 4 Mars 1897 j'ai semé 10 grains de *Cnicus benedictus* dans du sable additionné de même engrais que ci-dessus.

Le 2 Avril j'ai ramassé 8 plantes avec les téguments de leurs graines.

1^o Poids sec de 8 plantes — 230 mg.

Soit l'une 28,75 — 45 mg.

Gain par rapport au poids sec de la graine.

$$45 - 21.5 = 23 \text{ mg. } 2$$

Soit 109,10% de ce poids initial.

— Une rupture du tube à combustion m'a empêché d'avoir la quantité d'azote contenu dans les plantes. Néanmoins comme une semblable augmentation de poids sec ne va pas sans un accroissement notable de la quantité d'azote j'ai cru devoir mentionner ce résultat.

Sponaea purpurea.

Le 6 Janvier 1897 j'ai semé 10 grains de *Sponaea purpurea* dans du sable calcaire additionné de même engrais que dans les cas précédents.

Le 23 février j'ai arrêté l'expérience et ramassé 8 plantes que j'ai analysées après dessiccation préalable.

1^o — Poids de 8 plantes sèches — 305 mg.

Sol. l'ure $\frac{268}{100} = 38 \text{ mg } \text{N}$
 Gain par rapport au poids ou initial de la grain.

$$22.5 - 25 = 12 \text{ mg } \text{N}$$

Sol 49.08% de ce poids initial.

2^o Dosage de l'Azote total.

Poids total 112 mg

Vol. d'Azote au chili $7 \text{ cc } \text{N}$

$$t = 10^\circ \quad \text{Pression atm} = \frac{7}{1} \text{ mm}$$

D'air l'im. tu.

$$p = \frac{7.2 (1 - 9.15)}{100} \times 0.001251 = 8 \text{ mg } \text{N}$$

Ceci fut par une plante se au vide $28 \text{ mg } \text{N}$

$$F = \frac{8.56 \times 38.5}{182} = 1 \text{ mg } \text{N}$$

Gain par rapport à l'Azote initial de la grain.

$$1.24 - 1.248 = 0 \text{ mg } \text{N}$$

Sol 43.8% de cet azote initial.

L'essai du sol après culture n'a révélé aucune fermentation.

Résumé.

Ces résultats concordent entre eux pour montrer que la ~~nitro~~ Methylamine peut, de même que les méthylamines, servir de source d'azote pour les plantes. Elle peut être assimilée directement sans avoir eu à subir de transformation préalable dans le sol.

Propylamine.

J'ai employé le chlorhydrate de propylamine normal que j'ai préparé et purifié moi-même par saturation de propylamine normale, garantie pure, au moyen d'acide chlorhydrique pur, et par reinstallation répétée dans l'alcool absolu.

Les expériences ont été faites à l'aide de deux plants suivants:
 Zea Mais, Cucumis propeetarum.

Zea Mais.

Le 25 Novembre 1895 j'ai semé 10 grains de Mais sur
 du sable préparé avec la précaution habituelle et additionné de P.
 suprain ci-après:

Solution min sans agit. — 50cc.

Chlorhydrate de propylamine normal 2g. 50

L'expérience est arrêtée le 22 Décembre. J'ai recueilli 6
 plantes destinées à l'analyse.

1° Poids de 6 plantes sèches — 81g. 50
 Sol P_{min} — $\frac{81g. 50}{6} = 136$ mg.

Gain par rapport au poids sec initial de la graine.
 $136 - 134.5 = 1.5$ mg.

2° Dosage de l'Azote total —

Poids de substance pulvérisée — 2g. 50

Vol. de l'Azote recueilli — 7cc. 2

$\theta = 15^\circ$ Fusion atm. = 766 mm.

D'où l'on tire:

$$P_0 = \frac{7.2(766 - 13.6) \times 1.041265}{700(1 + 0.0035) \times 16} = 8 \text{ mg. } 50$$

Q qui fait pour une plante pesante sèche 136 mg.

$$P = \frac{8.50 \times 136}{2g. 50} = 4 \text{ mg. } 50$$

Gain par rapport à l'Azote initial de la graine.

$$4.50 - 4.3 = 0 \text{ mg. } 10$$

Le gain est très faible. Il doit être attribué aux mauvais
 conditions de la végétation retardée et contrariée par la température.

— L'essai ultérieur de sol, après culture, n'a donné aucune
 fermentation, nitrifique ou ammoniacale.

Cucumis prophetarum.

Le 16 Avril 1897 j'ai semé dans un milieu présentant la même composition que le précédent 10 grains de *Cucumis prophetarum*.

L'expérience a été arrêtée le 13 Mai, et j'ai recueilli 5 plantes destinées à l'analyse.

1^o Poids de 5 plantes sèches 84 mg.

Soit l'une 84 / 5 = 16.8 mg.

Gain par rapport au poids sec initial de la graine.

$$16.8 - 13.2 = 3.6 \text{ mg}$$

Soit 10% environ de ce poids initial.

2^o Dosage de l'Azote total.

Poids de substance séchée 189 mg.

Volume d'Azote recueilli 12 cc.

$t = 15^{\circ}$ Tension atm. = 772 mm.

On a l'osm. π .

$$p = \frac{12.2(772 - 13.6)}{760(1 + 1.00567 \times 16)} \times 0.001263 = 14 \text{ mg. } 0.2$$

Q qui fait par une plante graine sèche 16.8 mg

$$P = \frac{14.02 \times 161}{189} = 12 \text{ mg } 3$$

Gain par rapport à l'Azote initial de la graine.

$$12.3 - 11.47 = 0.83$$

Soit 10% environ de ce poids initial.

L'essai en sol après culture n'a donné aucune fermentation.

Résumé.

De même que les autres études précédemment, la propylamine est susceptible d'être utilisée comme un aliment azoté par les plantes. Elle peut être assimilée directement sans avoir subi au préalable dans le sol de fermentation ammoniacale ou nitrifère.

Butylamine.

J'ai employé l'isobutylamine que j'ai transformée en chlorhydrate et purifiée par recristallisations dans l'alcool absolu. Les expériences ont été poursuivies sur les deux espèces: Cucumis prophetarum et Sponsoea purpurea.

Cucumis prophetarum.

Le 5 Janvier 1897, j'ai semé, avec les précautions habituelles, 10 grains de Cucumis prophetarum dans un vase additionné de l'engrais suivant:

Solution min. sans Azote — 10 cc.

Chlorhydrate d'Isobutylamine — 0,50

Le 9 Février, j'ai recueilli trois plantes destinées à l'analyse.

1. - Poids sec des trois plantes: 117 mg.
 Soit l'une $\frac{117}{3} = 39$ mg.

Gain par rapport au poids sec de la graine:

$$117 - 113,2 = 3,8 \text{ mg.}$$

2. - Dosage de l'Azote Total.

Poids de substance séchée — 117 mg.

Vol. de l'Azote recueilli — 12 cc. 2

$\bar{C} = 11$. Pression atm. = 777 mm.

D'où l'on tire:

$$p = \frac{12,2 (777 - 9,87)}{760 (1 + 0,00367 \times 11)} \times 0,001265 = 14 \text{ mg. } \left[\bar{C} \right]$$

C qui fait pour une plante pesant sèche 117 mg.

$$P = \frac{14,56 \times 117}{1,87} = 12 \text{ mg. } \bar{C}.$$

Gain par rapport à l'Azote initial d'une graine.

$$12,22 - 11,47 = 0,75$$

soit $\frac{0,75}{11,47} \%$ de ce poids initial.

L'essai ultérieur de sol n'a donné aucune fermentation.

Sponaea purpurea

Le 4 Mars 1897 j'ai semé 10 grains de *Sponaea purpurea* sur du sol additionné du même engrais que dans l'expérience précédente.

L'expérience a été arrêtée le 27 Avril. J'ai recueilli 6 plants destinés à l'analyse.

1^o - Poids sec des 6 plants : 337 mg.

$$\text{Soit l'eau } \frac{337}{6} = 56 \text{ mg.}$$

Gain par rapport au poids sec de la graine :

$$56 - 26 = 30 \text{ mg.}$$

Soit 11.3 % de ce poids initial.

2^o - Dosage de l'Azote total.

Poids de substance séchée _____ 190 mg.

N. l'Azote recueilli _____ Acc. 6

$$N = 18\% \quad \text{Donc azote atmosph.} = \frac{7}{100} \times 190$$

Donc l'on tire :

$$p = \frac{4.5 (715 - 1.1)}{760 (1 + 0.00267 \times 19)} \times 0.001262 = 1 \text{ mg. N}$$

Q qui fait pour une plante pesant sèche 56 mg.

$$P = \frac{1.31 \times 56}{10} = 1 \text{ mg. } \frac{56}{10}$$

Gain par rapport à l'Azote initial contenu dans une graine :

$$1.565 - 1.298 = 0 \text{ mg } \frac{267}{10}$$

Soit 24.4 % de ce poids initial.

L'essai en sol après répétition n'a donné aucun résultat.

Résumé.

L'*Sobetyfarium* entre dans le cas des annes étudiées précédemment : les plantes peuvent s'abriter et s'assimiler, comme source d'azote, sans avoir besoin que ce corps ait été préalablement transformé dans le sol en nitrate ou en sel ammoniacal.

Amylamine ~

Une partie de l'amylamine employée m'a été donnée par Sclapine; l'autre provient de commerce. Dans le sens que j'en ai obtenu moi-même la saturation et la purification.

Les expériences ont été faites à l'aide des *Cucurbita maxima* et *Cnicus benedictus*.

Cucurbita maxima.

Le 24 Septembre 1896 j'ai semé, avec les précautions habituelles, 10 grains de *Cucurbita maxima* dans un sabbé additionné de Sengrais ci-après:

Solution min sans azote — 5cc.

Chlorhydrate d'amylamine — 0g. 50.

Le 5^e Novembre j'ai recueilli deux plantes que j'ai séchées & analysées.

1^o — Poids sec de deux plantes. — 390 mg.

Sabbé pur — $\frac{390}{2} = 195$ mg.

Gain par rapport au poids sec initial d'une plante.

$195 - 137 = 58$ mg.

2^o — Dose de l'Azote total.

Poids de substance séchée — 267 mg.

Vol. d'Azote recueilli — 24cc. 0

G = 11% — Pression atm. = 760.

Donc on trouve

$$p = \frac{24 (760 - 13.2)}{760 (1 + 0.0035)} \times 11\% = 27 \text{ mg } 2'$$

Q qui fait pour une plante pesant séché 195 mg.

$$P = \frac{28.2 \times 195}{267} = 10 \text{ mg } 87'$$

Gain par rapport à l'Azote initial de la plante.

$$10, 87 - 10, 3 = 6 \text{ mg } 57'$$

Sabbé 64% au moins de ce poids initial.

— L'essai du sol a été fait dans une condition particulière.

Une petite portion de ce sol a été prélevé et analysé. Il ne s'y était produit aucune fermentation.

Le sol a reçu une semence nouvelle (*Cucurbita maxima*), sans addition, l'aucune substance nutritive. La végétation de ces nouvelles plantes a été prolongée un peu plus d'un mois (5^e au 10^e Septembre).

Bien que l'analyse des plantes récoltées n'ait donné des résultats de même ordre que ceux de la première culture, je ne les mentionnerai pas en détail, car cette expérience n'a pu évidemment être faite dans la condition d'absence rigoureuse exigée par ces recherches.

Le sol a été analysé de nouveau, et cette fois encore je n'ai pas trouvé de produit ayant pu être engendré par une fermentation nitrique ou ammoniacale.

Cette expérience montre donc d'une façon très nette l'absorption directe de l'ammoniac.

Oniscus benedictus.

Le 16 Avril 1897 j'ai semé, avec des précautions habituelles, 10 graines de *Oniscus benedictus* dans un sol composé comme celui de l'expérience précédente.

Le 17 Mai j'ai récolté les plantes que j'ai séchées, pesées et analysées.

1^o - Poids de 8 plantes sèches ——— 284 mg.

Soit l'une $\frac{284}{8} = 35$ mg. f.

Gain par rapport au poids sec initial de la graine:

35.5 - 21.5 = 13 mg. f.

Soit 62.83% de ce poids sec.

2^o - Dosage de l'Azote total ———

Poids de substance prélevée ——— 244 mg.

Vol. de l'Azote recueilli ——— 10 cc. v

$\rho = 2.90$

Pression atm. = $\frac{717}{7}$ mm.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{10,2 (287 - 14,8)}{760 (1 + 0,0025) \times 22} \times 0,001263 = 11 \text{ mgr. } \{6\}$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 3 mgr }

$$F = \frac{11,6 \times 3,5}{214} = 1 \text{ mgr } 917$$

Gain par rapport à l'azote initial de la paille :

$$1,917 - 1,094 = 0 \text{ mgr. } 823$$

Soit 22,22 % de cet azote initial.

— L'essai du sol après végétation n'a eu aucun résultat.

Résumé.

Les expériences qui précèdent concordent entre elles pour montrer que les az. s'amplifient sans directement assimilable par la plante pour servir à sa nutrition azotée. Ils n'ont pas besoin pour être assimilés de subir une transformation préalable dans le sol.

Allylamine.

L'allylamine employée a été transformée en chlorhydrate que j'ai purifié par réitérations répétées sur l'alcool absolu et dans le vide.

Les expériences ont été faites sur les plantes suivantes :

Cucurbita maxima, Helianthus annuus (2 expériences)

Cnicus benedictus, Cucumis prophetarum.

Cucumis prophetarum

Le 6 Janvier 1897 j'ai uni, avec les précautions habituelles, 10 grains de Cucumis prophetarum dans un bocal additionné ni de l'engrais sucré :

Solution mère sans azote — 50 cc.

Chlorhydrate d'allylamine — 0,50 cc.

Le 1^{er} Février, remarquant que les plantes dépérissaient, j'ai arrêté l'expérience; j'ai trié les plantes, au nombre de trois, qui ne présentaient aucune trace d'allélation, je les ai séchées puis analysés.

1^o Poids des trois plantes sèches ——— 178 mg.
 Soit l'une $\frac{178}{3} = 59.33$ mg.

Gain par rapport au poids initial de la farine
 $178.33 - 137 = 41$ mg.

2^o Dosage de l'Azote Total.

Poids de substance pulvérisée ——— 24 mg.

Vol. d'Azote recueilli ——— 11 cc. 5

$t = 15^{\circ}$ Pression atm. = 769 mm.

D'où l'on tire:

$$p = \frac{11.5(769 - 13.6)}{760(1 + 0.00367 \times 15)} \times 0.001263 = 13 \text{ mg. } \frac{1}{64}$$

ce qui fait pour une plante pesant sèche 178 mg. 33.

$$P = \frac{13.64 \times 178.33}{24} = 9 \text{ mg. } 973$$

Perte par rapport à l'Azote initial de la farine:

$$10.3 - 9.973 = 0 \text{ mg. } 427$$

Soit 4.14% de cet azote initial.

— L'essai du sol après culture n'a décelé aucune fermentation.

Autres plantes.

Il m'a été impossible, quelque précaution que j'ai prise de faire végéter d'autres plantes sur le sol additionné d'al. Lylamine (Chlorhydrate). La germination s'effectuait toujours dans de bonnes conditions, puis brusquement les plantes ont dépéri avec une grande rapidité et elles sont toutes mortes en peu de jours.

J'ai néanmoins constaté sur les divers sols de culture qu'il n'avaient été pendant la végétation, le siège d'aucune transformation de l'alylamine en pyruvate.

Résumé.

L'allylamine, au contraire de toutes celles étudiées précédemment, se montre donc impropre à la nutrition azotée des végétaux phanérogames, dans le cas bien entendu, où elle ne subit aucune fermentation dans le sol.

Quant à la perte d'azote éprouvée par la plante pendant sa végétation dans le sol d'allylamine, j'aurai l'occasion d'y revenir un peu plus loin.

Benzylamine.

J'ai employé la benzylamine à l'état de chlorhydrate que j'ai préparé par saturation et récrystallisation dans l'alcool absolu, à l'aide de benzylamine pure et sèche.

Mes recherches ont été effectuées sur les deux plantes suivantes: *Zea Maïs* et *Cucumis propestrarius*.

Zea Maïs

Le 26 Novembre 1898 j'ai semé, avec les précautions habituelles 10 grâmes de Maïs dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution mère sans ajout — 50cc.

Chlorhydrate de benzylamine — 0,50.

L'opération est arrêtée le 31 Décembre. J'ai récolté trois plantes parfaitement saines que j'ai soumises à l'analyse.

Poids de ces trois plantes. 319mg.

Poids d'une $\frac{319}{3} = 106 \text{ mg.}$

Perte par rapport au poids initial de la graine.

$134,5 - 106 = 28,5 \text{ mg.}$

Perte 21,67% de ce poids initial.

11. - Dosage de l'azote total. -

Poids de substance pulvérisée — 200 mgr.

N^o. l'Azote recueilli — 6 cc. 0

$\theta = 11^{\circ}$ Pression atm. = $\frac{7}{8}$

D'où l'on tire :

$$p = \frac{6(\frac{7}{8} - 14.7)}{760(1 + 0.00367 \times 11)} \times 0.001263 = 7 \text{ mgr. } 02\%$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 104 mgr.

$$P = \frac{7.02\% \times 104}{200} = 3 \text{ mgr. } 63\%$$

Perte par rapport au poids initial de l'azote d'une graine :

$$4.53 - 3.63 = 0 \text{ mgr. } 87\%$$

Soit $\frac{14.3\%}{100}$ de ce poids initial.

— L'essai en sol après végétation n'y a eu aucune fermentation.

Cucumis prophetarum.

Le 4 Mars 1897 j'ai semé avec les précautions habituelles 10 grains de Cucumis prophetarum dans un sol additionné d'un engrais analogue à celui de l'expérience précédente.

Le 5 Avril j'ai récolté trois plantes bien saines que j'ai soumises à l'analyse. (Les échantillons de grains ont été joints aux plantes)

1. - Poids sec de trois plantes. — 240 mgr.

$$\text{Soit l'une } \frac{240}{3} = 80 \text{ mgr.}$$

Gain par rapport au poids initial de la graine

$$80 - 1/3, 2 = 86 \text{ mgr. } 8$$

Soit 56.6% de ce poids initial.

2. - Dosage de l'azote total. -

Poids de substance pulvérisée — 240 mgr.

N^o. d'Azote recueilli — 4 cc. 0

$\theta = 20^{\circ}$ Pression atm. = $\frac{760}{760}$ mm.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{4(760 - 17.4)}{760(1 + 0.00367 \times 20)} \times 0.001263 = 10 \text{ mgr. } 84\%$$

Ceci fait pour une plante pesant sèche 240 mgr.

$$F = \frac{10.34 \times 240}{284} = 11 \text{ mg. } 07$$

Perte par rapport à l'apote initial contenu dans une graine.

$$11.47 - 11.07 = 0 \text{ mg. } 40$$

Soit 3.50 % de ce poids initial.

— L'essai du sol après culture a montré qu'il ne s'y était produit aucun ferment, sans aptitude à changer la nature du produit apote qu'il contenait.

Résumé.

La benzylamine ne peut pas non plus servir à la nutrition, apote ou phanérogame, si toutefois elle ne agit pas dans le sol de fermentation préalable.

Les végétaux y subissent en outre une perte d'apote comme dans le cas de l'allylamine.

Diphénylamine.

Le chlorhydrate de Diphénylamine que j'ai employé pour ces recherches a été soigneusement garanti pur et je l'ai soumis à plusieurs cristallisations dans l'alcool absolu.

J'ai fait plusieurs expériences portant sur les plantes suivantes: *Cucurbita maxima* et *Lea Maïs*.

Cucurbita maxima (1^{re} expérience).

Le 10 Octobre 1896, j'ai planté avec la précaution habituelle 10 graines de *Cucurbita maxima* dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution riche en Azote — 50cc

Chlorhydrate de Diphénylamine — 0.50

Les graines germent rapidement, mais les radicules, de leur

apparition, hors de tout contact subissant une véritable brûlure qui
les détruit entièrement.

2^e expérience -

J'ai alors répété la même expérience en diminuant
la quantité de Diphénylamine qui fut réduite à 0g. 20
seulement (à chlorhydrate). Cette nouvelle expérience a été faite le
17 Octobre. Dès la germination les racines subissent une brûlure
comme dans l'expérience précédente.

3^e expérience

Le 24 Octobre j'ai disposé une nouvelle expérience en réduisant
la dose de chlorhydrate de Diphénylamine à 0g. 1.

Même échec

4^e Lea Maïs

Le 24 Novembre 1896 j'ai fait sur 40 grains de Maïs une
nouvelle expérience avec l'engrais précédent, mais en réduisant
à 0g. 10 la dose de chlorhydrate de Diphénylamine.

Les plantes germent difficilement et leur végétation prend
un aspect souffreteux.

Le 22 Décembre j'ai arraché les plantes: leurs racines
étaient presque entièrement brûlées.

Résumé: ~

Même à faible dose, la Diphénylamine se comporte vis-à-
vis des plantes phanérogames, comme un violent toxique.

Aniline ~

J'ai employé l'aniline à l'état de sulfate. J'ai
fait plusieurs expériences avec *Cucurbita maxima* et Lea Maïs.

Cucurbita maxima - 1^{re} Expérience.

Le 10 Octobre 1896 j'ai planté, avec les précautions habituelles, 10 grains de Cucurbita maxima dans du sable additionné de Superphosphates :

Solubis mine sans Azote — 50 cc.

Sulfate d'ammoniac — 0,5 g.

Dès leur germination, les radicules sorties des grains sont brûlées.

2^e Expérience

Le 17 Octobre je refais une nouvelle expérience en réduisant la dose de sulfate d'ammoniac à 0,25 g.

Même échec que dans le cas précédent.

3^e Expérience.

Le 24 Octobre je sème & repais 10 grains de Cucurbita en réduisant à 0,25 g. la dose de sulfate d'ammoniac.

Les jeunes plantes se développent très médiocrement, et lorsque je les retire du substratum je m'aperçois que les racines étaient presque totalement détruites.

Les Maïs. — 1^{re} Expérience.

En même temps que je plantais des grains de Cucurbita, le 10 Octobre 1896 j'ai planté 10 grains de Maïs dans un sol artificiel additionné de 0,5 g. de sulfate d'ammoniac.

Les radicules de ces grains furent brûlées au contact du sol dès leur germination.

2^e Expérience.

Le 24 Novembre 1896 j'ai fait une nouvelle expérience en réduisant à 0,25 g. la quantité de sulfate d'ammoniac ajoutée au sol.

Le 21 Décembre j'ai arraché la plante. Les racines étaient

encore brûlés, moins profondément que dans le cas précédent, il est vrai, mais suffisamment pour s'opposer d'une façon sérieuse au développement de la plante.

Résumé.

Les sels d'ammonium sont donc toxiques ni à vis de la plante de la même manière que ceux de Diphénylamine.

Je noterais cependant en passant que, à poids égal de produit, l'action de sels d'ammonium a été beaucoup moins violente, sur les racines de plants, que celle du sel de Diphénylamine.

Ce fait pourrait être attribué au radical phényle lui-même l'action funeste exercée sur la plante par le seul ammoniac qu'il suspendre.

Naphtylamine.

J'ai employé la naphtylamine à l'état de chlorhydrate, et les expériences ont été poursuivies sur les deux plants:

Lea Maïs et *Cucurbita maxima*.

Lea Maïs.

Le 16 Octobre 1895 j'ai semé 10 grains de Maïs dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution mère par litrage — 10 cc.

Chlorhydrate de Naphtylamine pur — 0,5 g.

La germination s'est effectuée rapidement, mais dès leur apparition les radicules furent brûlées au contact de la naphtylamine et les premières feuilles de la gemme furent également détruites dès leur contact avec le sol de culture.

Cucurbita maxima - 1^{re} expérience

Le 10 Octobre 1895 j'ai planté, avec les précautions habituelles, septaine de Cucurbita maxima dans un sol de même composition que celui de l'expérience précédente.

Dès leur germination, les radicaux des jeunes plantes boursaillent fortement au contact du sol, se recroquevillent et en très peu de jours (4 à 5 suivant les plants) leur destruction s'accroît et l'altération s'étend jusqu'aux cotylédons.

2^e expérience.

J'ai fait une nouvelle expérience en réduisant la dose de chlorhydrate de naphthylamine à 0g. 2f.

Même succès. Les plantes sont détruites par l'action du sel de naphthylamine.

3^e expérience.

La dose de chlorhydrate de naphthylamine est réduite à 0g. 10. Aussitôt après leur germination, les plantes ont semblé malades et développées, mais elles expirèrent bientôt avec rapidité et l'examen montra que leurs racines étaient entièrement détruites.

4^e expérience.

La dose de chlorhydrate de naphthylamine est encore réduite.

Le 24 Novembre 1895 j'ai fait une nouvelle expérience avec 0g. 10 seulement de chlorhydrate de naphthylamine.

La germination s'est effectuée assez bien, mais le développement des plantes parus arrêté à ce stade. Le 22 Décembre j'ai fait l'examen des échantillons; les racines étaient encore détruites.

Résumé.

Même à faible dose, la naphthylamine se montre donc puissamment toxique vis-à-vis des plantes phanérogames dans elle détruit les tissus comme l'a fait la diphénylamine et l'aniline.

Pyridine.

J'ai employé la pyridine à l'état de chlorhydrate que j'ai obtenu en saturant de la pyridine paracétique pure et en tournant le produit à plusieurs reprises dans le vide. Les expériences ont porté sur les deux plants: Cucurbita maxima et Lea Maïs.

Cucurbita maxima

Le 7 Janvier 1897 j'ai semé, avec les précautions habituelles, 10 grains de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution mère sans ajout ———— 10 cc.

Chlorhydrate de pyridine ———— 0,5 g.

La germination s'est effectuée d'une manière peu satisfaisante: 5 grains seulement ont germé. Les jeunes plants auxquels ils ont donné naissance se sont mal développés et de le début à fin ils étaient en plein dépérissement. Des torsions de leurs axes hypocotyles avaient amené de profondes cassures transversales à ces axes; les cotylédons ne s'étaient pas ou à peine épanouis; la racine principale, grêle et courte ne portait que quelques radicelles, maigres et crispées à leur extrémité. Au point de naissance de la racine, l'axe hypocotyle se déplaçait latéralement et se formait de chaque côté une tige qui s'appliquait en s'avancant latéralement sur le sol. Enfin toutes les plantes présentaient sur leur surface de nombreuses taches colorées de rouille.

Lea Maïs

Le 7 Janvier 1897 j'ai semé également 10 grains de Maïs dans un sol présentant la même composition que le précédent. J'ai éprouvé le même échec qu'avec la Cucurbita maxima.

Résumé.

La pyridine, elle aussi, est sans importance à la nutrition, ajoutée de végétaux phanérogames, dont elle ne peut, seule, être une source d'azote directement assimilable.

Alcaloïdes.

Caféine.

Le chlorhydrate de Caféine étant dissociable par l'eau, je me suis senti à essayer l'emploi de la Caféine non salifiée; devant les mauvais résultats que m'ont donnés mes cultures j'ai préparé à l'état pur du chlorhydrate de Caféine avec lequel j'ai fait de nouvelles expériences.

Voici les détails de ces recherches qui ont porté sur de grains de *Cucurbita Maxima* et de Maïs.

1^o Caféine non salifiée.

Cucurbita maxima - 1^{re} expérience.

Le 11 Octobre 1896 j'ai planté 10 grains de *Cucurbita maxima* dans du sable additionné de l'engrais suivant.

Solution mère sans Azote ———— 50cc.

Caféine (bas) ———— 0g.50

La germination s'est effectuée rapidement, mais les plantes n'ont pas apparues, primitivement des signes de dépérissement et moururent avec rapidité. A l'examen j'ai constaté une destruction importante de racines des divers échantillons.

2^e Expérience.

Cette 2^e expérience a été faite avec un substratum contenant 0g. 25 seulement de Caféine (bas).

J'ai éprouvé la même idée que dans la 1^{re} expérience.

Lea Maïs.

Le 16 Octobre 1895 j'ai semé 10 grains de Maïs dans du sable additionné d'un engrais analogue à celui de la 1^{re} expérience faite sur le Cucurbita, c'est à dire contenant 0g. 50 de Caféine brute par pot.

Le développement de plantes s'est effectué dans de mauvaises conditions, et en peu de temps toutes moururent après s'être très peu développées et avec pour les racines grêles qui n'ont été assez profondément brûlées au contact de nitrostratum.

2^o Caféine salifiée (chlorhydrate)

Lea Maïs

Le 6 Janvier 1897 j'ai semé 10 grains de Maïs dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère par ajout — — — — — 50cc

Chlorhydrate de Caféine — — — — — 0g. 50

La germination s'est bien effectuée, mais les jeunes plantes semblent souffrir au bout de peu de temps, et elle ne tardent pas à donner des signes manifestes de dépérissement?

Le 1^{er} Février j'ai recueilli 4 plantes ne présentant aucune altération de tiges et je les ai analysés.

— 1^o — Poids sec de 4 plantes — — — — — 277 mgr.

Soit l'une $\frac{277}{4} = 69$ mgr. 25

Perte par rapport au poids sec initial de la graine.

184.5 — 69.25 = 115.25 mgr. 25

Soit $\frac{30}{100}$ de poids initial de la graine sèche.

— D. Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance séchée — 264 mg.

Vol. d'Azote recueilli — 6 cc. 1

$t = 13^{\circ}$ Pression atm. = 760

On a l'on trouve :

$$p = \frac{6,1(760 - 11,3)}{760(1 + 0,00267 \times 13)} \times 0,001263 = 7 \text{ mgr. } 24$$

Q qui fait pour une plante pesant sèche 44 mgr. 24 :

$$P = \frac{7,24 \times 44,24}{264} = 2 \text{ mgr. } 59$$

Soit par rapport à l'Azote initial contenu dans la graine une

Perte de $4,53 - 2,58 = 1 \text{ mgr. } 95$

ou 43,64 %.

— L'essai du sol n'y a montré la présence d'aucun composé nitrique ou ammoniacal.

Résumé. —

La Caféine base s'est montrée toxique vis-à-vis de plantes hémigames, dont elle détruit les tissus.

Quant au chlorhydrate de Caféine il s'est comporté comme un corps non assimilable, et il a donné lieu chez la plante à une perte d'azote analogue à celle déjà observée avec certains autres sels.

Quinine. —

Le sel de Quinine employé a été le chlorhydrate et les expériences ont porté sur les deux graines de *Cucurbita maxima* et de *Mais*.

Cucurbita maxima.

Le 11 Octobre 1895 j'ai planté, avec la précaution d'usage
10 graines de Cucurbita maxima dans du sable Dickinson & Neuplain
suivant :

Solution mère par Azote ——— 10cc

Alcoolate de Quinine ——— 0,50

Peu de temps après les geminations, les plantes ont commencé
à donner des signes de dépérissement, et au fur & jours elles moururent toutes.

Lea Maïs

Le 26 Novembre 1895 j'ai planté 10 graines de Maïs dans une
substratum présentant la même composition que le précédent.

La végétation n'a pas été très brillante, néanmoins les plants
se maintiennent pendant assez longtemps sans trop dépérir.

Le 31 Décembre j'ai recueilli 4 plantes en présentant
extérieurement aucune trace d'altération, et je les ai analysés.

1^o — Poids de 4 plantes sèches ——— 400 mgrs.

Soit l'une $\frac{400}{4} = 100$ mgrs.

Perte par rapport au poids sec primitif de la graine :

134,5 - 100 = 34 mgrs.

2^o — Dosage de l'Azote total.

Poids de substance séchée ——— 151 mgrs.

Pds. de l'Azote recueilli ——— 4cc. 1

G = 11^o Pression atm. = 759 mm.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{4.1(759 - 12.7)}{760(1 + 0.00367 \times 11)} + 0.001263 = 4 \text{ mgrs. } 11.$$

Ceci fait pour une plante pesant sèche 100 mgrs.

$$P = \frac{4.11 \times 100}{11} = 3 \text{ mgrs. } 18$$

Perte par rapport à l'Azote initial contenu dans une graine :

$$4.13 - 3.18 = 0.95$$

Soit 29.80 % de ce poids initial.

Résumé.

Au même que la Caféine, la Quinine s'est conduite comme une source d'Azote non assimilable directement par la plante. Elle ne peut, dans la condition ordinaire, servir à la nutrition azotée des végétaux phanérogyames.

Cocaïne.

Les expériences ont été effectuées à l'aide de chlorhydrate de cocaïne pure et ont porté sur des graines de *Cucurbita maxima* et de *Lea Maïs*.

Cucurbita maxima

Le 11 Octobre 1896 j'ai planté 10 graines de *Cucurbita maxima* dans un sol artificiel additionné à l'usage air suivant :

Solution mère sans Azote — 10 cc.

Chlorhydrate de Cocaïne — 0,50

La germination s'est effectuée dans des conditions satisfaisantes, mais au bout de quelques jours les plantes ont présenté des signes de dépérissement et elles ne tardèrent pas à mourir.

Lea Maïs

Le 27 Novembre j'ai répété la même expérience avec 10 graines de Maïs qui furent disposées dans un substratum de même composition que le précédent.

Les plantes souffrant souffrir, j'ai ramassé le 24 Décembre 6 plantes ne présentant extérieurement aucun signe d'altération, de flétrissure et je les ai analysées.

— 1^o — Poids sec de 6 plantes — 789 mg.
Soit l'une $\frac{789}{6} = 131$ mg.

Perte par rapport au poids de d'une graine

$$134.5 - 131 = 3 \text{ mg. } 5$$

— Ex. — Quantité de l'Azote total —

Poids de substance séchée — 250 mg.

M. d'Azote recueilli — 6 cc 2.

E = 11° Fusion de m. 764 1/2

D'air l'on tire :

$$p = \frac{6.2 (764 - 9.17)}{760 (1 + 0.0036) \times 11} \times 0.001263 = 7 \text{ mg. } 17$$

Q qui fait pour une plante pesant sèche 131 mg.

$$P = \frac{7.17 \times 131}{250} = 3 \text{ mg. } 91$$

Perte par rapport à l'Azote initial contenu dans une graine.

$$4.3 - 3.91 = 0 \text{ mg } 62$$

Soit 13.69 % de ce poids initial.

Résumé. —

La cocaïne se conduit donc aussi comme un composé azoté inerte à la nutrition des végétaux phanérogames, dans les conditions où elle n'a pu subir aucune transformation préalable.

Atropine. —

Les expériences effectuées avec du sulfate neutre d'atropine ont porté sur des graines de *Cucurbita maxima* et de *Lea Maïo*.

Cucurbita maxima.

Cette expérience a porté sur 10 graines qui ont été plantées le 11 Octobre 1896 dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère d'Azote — 50 cc.

Sulfate neutre d'atropine — 04.50

La germination s'est effectuée sans les conditions optimales, mais au bout de quelques jours les plantes merveilleusement saines et sans un laps de temps relativement restreint elles furent tantes.

Lea Maïs

Le 26 Novembre j'ai disposé 10 grains de Maïs dans un sol artificiel présentant la même composition que celui de l'expérience précédente.

Le 24 Décembre j'ai recueilli 6 plantes ne présentant extérieurement aucune altération et je les ai analysés.

1. Poids sec des 6 plantes — 42 mg
 Soit l'une $\frac{42}{6} = 7 mg$

Perte par rapport au poids primitif de la graine.
 $134.5 - 121 = 13.5 mg$

2. Dose de l'Azote total.

Poids de substance prise — 240 mg.
 Bl. et Azote recueilli — sec. 8
 $\delta = 17^\circ$ Pression atm. 762 mm.

D'où l'on tire

$$p = \frac{1.8(762 - 14.57)}{760(1 + 0.00367 \times 17)} \times 0.001263 = 6 mg \cdot 78$$

ce qui fait pour une plante pendant 121 mg.

$$P = \frac{6.78 \times 121}{240} = 3.411 mg$$

Perte par rapport à l'Azote initial de la graine.

$$4.5 - 3.411 = 1.089 mg$$

Soit $\frac{24.14}{100}$ % de ce poids.

Résumé

De même que les autres alcaloïdes étudiés jusqu'ici, l'atropine ne peut servir directement comme source d'Azote assimilable par les végétaux phanérogames.

Morphine.

Les expériences ont été faites avec du Chlorhydrate de Morphine pur et ont porté sur des graines de *Cucurbita maxima* et de *Lea Maïs*.

Cucurbita maxima

Le 11 Octobre 1895 j'ai planté 10 grains de *Cucurbita maxima* dans un sol additionné de l'azote suivant :

Solution mère sans Azote — 50 cc.

Chlorhydrate de Morphine — 0,50

Le même qu'avec les alcaloïdes précédemment étudiés, la germination s'est bien effectuée, mais après un temps assez court, les plantes succombèrent souffrir pour elle expérimenté rapidement.

Lea Maïs

Le 16 Octobre j'ai disposé cette nouvelle expérience avec 10 grains de Maïs plantés dans un sol composé comme le précédent.

Le 27 Novembre j'ai arraché les plantes et fait choix pour l'analyse de 3 d'entre elles qui ne présentaient aucune trace extérieure d'altération.

1. — Poids sec de trois plantes. — 363 mgrs.

Soit l'une $\frac{363}{3} = 121$ mgrs.

Perte par rapport au poids initial de la graine.

134,5 - 121 = 13 mgrs

2. — Dosage de l'azote total. —

Poids de substance séchée — 243 mgrs.

Vol. d'azote recueilli — 8 cc. 7

$T = 16^{\circ}$ Pression atm. = 779 mm.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{8.7(779 - 13.6)}{760(1 + 0.00367 \times 16)} \times 0.001263 = 10 \text{ mgrs. } 107$$

Ce qui fait pour une plante pesant xide 121 mg.

$$P = \frac{10,147 \times 121}{343} = 3 \text{ mg } 60$$

Perte par rapport à l'azote initial de la prairie:

$$4,53 - 3,60 = 0 \text{ mg } 93$$

Soit 20,52% de cet azote initial.

Résumé.

Le chlorhydrate de morphine n'est donc pas non plus susceptible de servir seul comme source d'Azote pour la plante.

Remarques générales.

On vient à voir, par ces diverses expériences, que les amines provenant de la substitution dans l'ammoniaque de son plusieurs hydrogènes par des radicaux à exposants peu élevés pourraient parfaitement servir comme sources d'Azote directement assimilables par les végétaux, et cela sans avoir eu besoin de subir dans le sol de transformation en sels ammoniacaux ou en nitrates.

On a vu également que les phénylaminés, naphthylaminés, alcaloïdes végétaux non transformés en sels, etc. exerçaient sur la plante une action toxique plus ou moins puissante.

De plus on a constaté que, si l'on faisait végéter des plantes dans un sol ne contenant tout son azote à l'état d'acides ou d'amines dont les radicaux substitués sont à exposants élevés, ces plantes éprouvaient une perte d'Azote.

Et l'opinion générale actuelle est que pendant leur germination, même prolongée, les plantes ne perdent pas d'Azote ou n'en perdent que de quantités très faibles, si cette germination a lieu dans un substratum contenant de l'Azote assimilable.

Il existe cependant un certain nombre d'observations contraires:

C'est ainsi que Boussingault (1) a fait germer et végéter 10 grains de pois dans l'obscurité pendant plusieurs semaines, et il a constaté au bout de l'expérience que ses plantes contenaient 0g. 072 l'Azote total alors que les grains en renfermaient 0g. 098, soit une perte de 0g. 022.

Dans une autre expérience faite avec 40 grains de blé et un grain de Maïs il ne trouva aucune perte d'Azote, et il en déduisit que l'Azote perdu dans la 1^{re} expérience tenait à une altération de ses pois.

D'autre part, dans la germination des Haricots, Schröder (2) et Karsten (3) ont également obtenu une perte d'Azote.

Sachsen (4), en 1844 leuz, n'en a pas observé sur le Pois.

Letmer (5), Leclerc (6) et Loskowsky (7), opérant sur des plantes différents arrivent au même résultat.

Boussingault (8), revenant sur ce sujet, suppose que la plante perd de l'Azote lorsqu'elle décompose des nitrates qui lui sont offerts pendant la végétation à l'obscurité, et qu'après elle produit un dégagement d'Azote libre.

Frank (9), faisant pousser des plantes avec ou sans Azote, dans l'obscurité, constate de grandes pertes d'Azote. Il admet que cet Azote disparaît à l'état gazeux, attribue ce phénomène à des putréfactions vitines, et constate la vérification de l'hypothèse de Boussingault relative à la décomposition des nitrates.

— Le résultat qui m'est été donné par les cultures faites dans des substratums contenant leur Azote à l'état de sels d'ammoniac sont

-
1. - Boussingault. - C.R. t. LVIII p. 881
 2. - Schröder. - Landw. Versuchs. stat. Vol. V, p. 493.
 3. - Karsten. - Landw. Versuchs. stat. Vol. VIII, p. 193.
 4. - Sachsen. - Keimung von Pisum sativum. Leipzig, 1872. p. 29
 5. - Letmer. - Physiologisch-chemische Untersuch. über die Keimung, 1877, p. 27 et 53
 6. - Leclerc. - C.R. t. LXXX, p. 66
 7. - Loskowsky. - Landw. Versuchs. stat. Vol. XVII, p. 211
 8. - Boussingault. - Ann. de Ph. et Ch., série 5, t. XXXII.
 9. - Frank. - Landw. Jahrb. 1888 p. 421.

Le radical substitué possède un exposant élevé, ou à l'état de sel
d'alcaloïdes, viennent donc en confirmation de conclusions
de Boussingault et de Frank, puisque l'observation finale a
montré une perte d'Azote.

Il reste à préciser exactement les conditions de cette perte d'azote
et à savoir dans quelle forme cet azote disparaît. J'ai entrepris de
recherches dans ce sens, mais elle ne m'ont pas encore fourni de
résultats concluants.

Chapitre II.

Nutrition des Algues.

Je me suis proposé dans cette deuxième partie d'appliquer aux Algues d'eau douce les recherches de nutrition entreprises sur les Phanérogames et de chercher si ces plantes pouvaient aussi puiser l'Azote ou si elles ont besoin pour se développer dans les amines et la alcaloïdes.

Etant données les faibles quantités pondérales pouvant être obtenues par la culture de ces végétaux, ces expériences ne peuvent être que purement qualitatives et je aurai mes bones à mentionner les succès et les insuccès sans chercher à établir les proportions d'Azote assimilés.

La nutrition minérale normale de Algues d'eau douce a été étudiée tout récemment par Molisch (1), qui a établi la formule d'un milieu nutritif complet convenant au développement de ces plantes. Voici cette formule:

Eau distillée	1000	Sulfate de Chaux	0,2
Nitrate de potasse	0,2	Sulfate de fer	trace
Diphosphate de potasse	0,2	Carbonate de Chaux	4,5
Sulfate de magnésie	0,2		pour neutraliser.

Je me suis inspiré de travaux de Molisch pour établir un liquide type de culture et ses diverses modifications. De plus, devant remplacer dans mes divers milieux de culture l'azote minérale par de l'Azote organique et voulant que cet azote

1. Molisch. - Die Ernährung der Algen (Süßwasseralgen) - Sitzungsber. der k. k. Akad. der Wissensch. in Wien, 1895 et 1896.

se trouve en quantités égales dans tous les milieux, j'ai calculé la quantité de chaque amine ou alcaloïde que j'introduirai à l'état de chlorhydrate dans chaque liquide pour lui conserver une teneur constante en Azote.

Comme l'emploi de chlorhydrate modifieait, par l'apport de chlore, la formule de Molisch j'ai ajouté au liquide type la quantité de chlorure de potassium dont le chlore correspondait à celui introduit dans les autres liquides. Enfin j'ai ajouté à chacun de ces derniers liquides 0,20 de sulfate de potasse pour compenser partiellement ~~le~~ la potasse que j'avais dû leur enlever en supprimant l'azotate de potasse.

Voici, du reste, résumés en tableau, les formules de ces divers liquides de culture :

Liquide à base de	Eau distillée	Azotate de potasse	Phosphate de potasse	Sulfate de Magnésie	Sulfate de Calcium	Sulfate de fer	Chlorhydrate de Piramine ou alcaloïde	Sulfate de potasse	Chlorure de potassium	Carbonate de Calcium
Type	1000	0,200	0,200	0,200	0,200	trace	0	0	0,372	qd pour neutraliser
Triméthylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,477	0,200	0	qd id
Diméthylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,547	0,200	0	qd id
Propylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,477	0,200	0	qd id
Isobutylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,547	0,200	0	qd id
Naphtylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,895	0,200	0	qd id
Diphénylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,926	0,200	0	qd id
Occaïne	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	1,545	0,200	0	qd id
Quinine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,930	0,200	0	qd id
Morphine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	1,871	0,200	0	qd id
Anylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,607	0,200	0	qd id
Benzylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,716	0,200	0	qd id

150 centimètres cubes de chacune de ces solutions sont introduits dans des fioles d'Erlenmeyer bouchées avec un tampon de coton et ces fioles sont ensuite stérilisées à l'autoclave à 120°.

Les précautions suivantes ont dû être observées dans la préparation de ces liquides:

Les vases employés ont été préparés avec exacte la garantie de pureté désirée et soumis ensuite à plusieurs recristallisations dans l'alcool absolu afin d'être assurés d'une pureté absolument rigoureuse.

L'un distillé a été redistillé avec le plus grand soin de façon que le produit final ne contienne aucune trace d'éléments étrangers.

— Ainsi préparés les flacons contenant les liquides de culture ont été ensémençés, avec toutes les précautions usitées en bactériologie, à l'aide d'un fil de platine préalablement flambé et portant une trace d'une culture pure de *Algues* à expérimenter.

— Les cultures d'*Algues* exigeant un temps relativement long pour leur complet développement (environ deux mois) je n'ai pu jusqu'ici faire que deux séries d'expériences, mais leurs résultats concordent parfaitement entre eux et aussi avec ceux qui ont été fournis par les cultures de Champignons.

1^{re} Expérience.

Cette première expérience a été faite sur le *Protococcus viridis*.

Le 20 Février j'ai ensémençé une série de flacons préparés comme il est dit plus haut avec une trace de culture pure de *Protococcus viridis*. Les flacons sont ensuite abandonnés à la température ordinaire près d'une fenêtre.

Très rapidement (en 2 ou 3 jours) les *Algues* végètent comme on s'en rend compte dans les fioles contenant les liquides à base de Naphthylamine et de Diphenylamine sont mortes; celle des fioles contenant des liquides à base d'alcaloïdes ne tardent pas à végéter également;

Au bout de 11 jours il est possible de noter un commencement manifeste de développement de *Algues* dans les autres fioles;

seule la culture faite dans le milieu à base de Benzylamine semble viable, bien que les Algues formant semence furent encore vivantes.

Après tout d'un mois on peut apercevoir sur le paroi de ces flacons et à la surface du liquide qu'ils recouvrent un notable développement d'Algues, qui commencent également à se manifester dans le liquide à base de Benzylamine.

L'expérience est arrêtée au bout de deux mois avec une abondante végétation dans toutes ces fioles, à l'exception de celles contenant de la Diméthylamine, Diéthylamine, Propylamine, Isobutylamine, Amylamine, Benzylamine.

2^e Expérience -

Mise en train le 24 Avril 1877 cette expérience est exécutée avec des filaments d'une Confervacée très commune, le Mesocarpus pleurocarpus. Les résultats fournis par cette expérience sont identiques à ceux de l'expérience précédente.

Il n'a pu noter une mort rapide des filaments immergés dans le liquide à base de Naphtylamine, Diphenylamine, alcaloïdes; un développement tardif dans la Benzylamine, très luxuriant au contraire dans toutes les autres fioles.

Toutefois dans le liquide à base de Benzylamine, les filaments d'Algues finissent par se détacher & finissent par se développer dans le liquide à base de Diméthylamine, Diéthylamine, Propylamine, Isobutylamine, Amylamine, Benzylamine, un tel développement d'Algues que certaines fioles étaient presque complètement remplies par leurs filaments.

Résumé -

Ces expériences montrent donc que les Algues d'eau douce se comportent vis-à-vis des substances azotées organiques

(amines et alcaloïdes) de la même manière que les plantes phanérogames. Elles peuvent assimiler l'azote qui leur est fourni sous cette forme quand le composé azoté sert de amine dans le radical substitué et à l'exposant peu élevé.

Moins difficiles que les phanérogames, elles ont pu végéter et emprunter à la Benzylamine l'azote qui leur est nécessaire.

La Naphtylamine, la Siphénylamine sont jusqu'au moment toxiques et les alcaloïdes ne peuvent servir à leur nutrition azotée.

Chapitre III.

Nutrition des Champignons.

Les expériences de nutrition, faites sur les champignons, sont généralement intéressantes, d'abord parce que ces plantes poussent avec une telle rapidité que les causes d'erreurs extérieures sont notablement diminuées; ensuite parce que le poids des spores apportés comme semence peut être considéré comme nul.

Il en résulte que les Champignons peuvent servir de moyen indirect d'analyse de la plus ou moins grande facilité avec laquelle les matériaux nutritifs sont assimilés. Il suffit pour cela de s'arranger de manière à préparer des milieux nutritifs de composition élémentaire constante et égale à celle d'un type déjà connu.

Les poids de Champignons obtenus à la fin de l'expérience seront entre eux dans la même proportion que les pouvoirs nutritifs de milieux en présence.

On se rappelle depuis les recherches de Raulin (1) un liquide type dans lequel on obtient le développement maximum d'une *Mucedinée*, *Aspergillus niger*. Ce liquide réussit également bien pour la culture d'une autre moisissure, le *Penicillium glaucum*.

Il était donc tout indiqué de prendre comme base de recherches le liquide de Raulin et d'opérer avec les deux Champignons susceptibles de s'y développer avec le maximum d'intensité.

Aussi ai-je calculé les formules de liquides nutritifs, modifications du liquide de Raulin, dans lesquels l'Aspote

1. Raulin. - Ann. de Sc. naturelle (Bot.) 1859.

minéral et ammoniacal serait remplacé par de l'Azote sous forme de combinaisons aminées ou alcaloïdiques, ainsi qu'il a déjà été fait pour le Phanérogames et le Algue.

Les quantités de Chlorhydrate d'amine ou alcaloïde introduits dans les divers liquides ont été calculés de telle sorte que l'Azote introduit fut en quantité constante et égal à celle du liquide type de Naulin.

Pour compenser le Chlore introduit sous forme d'acide chlorhydrique, j'ai ajouté au liquide type de Naulin une quantité de Chlorure de potassium correspondant à cette quantité de Chlore.

Le potassium introduit ainsi dans le liquide de Naulin modifié a été compensé dans tous les autres liquides par addition de la quantité correspondante de tartre neutre de potasse, et l'acide tartrique provenant de ce tartre diminué sur la quantité d'acide tartrique libre introduit dans la formule primitive.

L'addition de des Protéines ou d'alcaloïdes dans les divers milieux entraîne également l'apport dans ces milieux d'un excès de Carbone. Cet excès a été calculé et, après avoir été rapporté au sucre, diminué sur la quantité de cette substance existant dans la formule primitive.

De la sorte tous les liquides présentés, quant aux éléments nutritifs, une composition élémentaire rigoureusement la même.

Les résultats de ces expériences sont donc comparables entre eux, et de poids fins ou Crampignon ou foin a conclu au sujet d'assimilabilité par ces végétaux de divers amines ou alcaloïdes expérimentés.

Voici, résumée en tableau, les formules de ces différents liquides:

Substances entraînant au cas de la formule	Liquides à la formule	Acide nitrique	Acide azoté	Ammoniac anhyd.	Diméthyl- amine	Triméthyl- amine	Diéthyl- amine	Propyl- amine	Isobutyl- amine	Amyl- amine	Benzyl- amine	Allyl- amine	Naphtyl- amine	Diphényl- amine	Pyridine	Caféine	Cocaine	Quinine	Morphine
Eau distillée		1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500
Sucre candi	70g	70	66,80	63,69	60,28	57,18	60,28	57,18	65,50	64,19	60,367	37,93	34,53	56,00	63,59	15,49	37,95	19,92	
Acide tartrique		8,45	8,45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sulfate neutropotasse		0	0	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76
Nitrate d'ammoniaque		4,50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phosphate de potasse		0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Carbonate de magnésie		0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sulfate de potasse		0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Sulfate de zinc		0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Sulfate de fer		0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Silicate de potasse		0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Chlorhydrate de P. amine employé		0	0	7,60	9,028	10,75	12,32	10,75	12,32	13,90	16,14	10,535	20,20	25,12	13,014	6,48	38,30	20,95	42,24
Chlorure de potassium		8,40	8,40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Les expériences ont été faites de la manière suivante :

150 cc. de chacune de ces solutions sont introduits dans des cristalliers de forme large, de façon à ce que le liquide ne présente pas une épaisseur supérieure à 2 centimètres. Ces cristalliers sont recouverts par une lame de verre.

Les spores du champignon, prélevées à l'aide d'une aiguille de platine flambée sont introduites dans le milieu liquide, et les cultures sont disposées à l'étuve à 30°.

Lorsque le développement du champignon ne paraît plus faire de progrès et que leur sporulation est complète dans le liquide type, l'expérience est arrêtée.

Le contenu des cristalliers est versé sur des filtres tarés, lavés au préalable à l'eau distillée. Lorsque tout le liquide est écoulé, on lave le champignon resté sur le filtre avec de l'eau distillée; finalement, on sèche le filtre à l'étuve et on le pèse.

Voici les résultats de l'expérience :

Aspergillus niger.

Le 12 Novembre 1896 j'ai disposé une série de cristalliers contenant des liquides nutritifs préparés comme l'indique le tableau précédent, et je les aiensemencés avec quelques spores d'*Aspergillus niger*.

Le développement du Champignon s'est effectué avec régularité, et le 23 Novembre (11 jours après) j'ai mis fin à l'expérience.

Les champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, ~~lavés~~ lavés, séchés et pesés.

J'ai obtenu les poids suivants, qui sont comparés aux poids obtenus avec le liquide type sans azote :

Liquides à base de:	Poids de Ch. recueilli: (en grammes)	Gain sur liq. sans Az.: (en grammes)	Perte sur liq. sans Az.: (en grammes)
Sans Azote	0,040	"	"
Nautin modifié	5,805	5,465	"
Moroniéthylamine	4,733	4,693	"
Diméthylamine	4,213	4,173	"
Triméthylamine	2,585	2,545	"
Diéthylamine	2,790	2,750	"
Propylamine	3,453	3,413	"
Isobutylamine	2,118	2,078	"
Amylamine	3,233	3,193	"
Allylamine	2,282	2,242	"
Benzylamine	0,137	0,097	"
Naphtylamine	0	0	0,040
Diphénylamine	0	0	0,040
Pyridine	0,027	"	0,013
Cafféine	0,042	0,002	"
Quinine	0,030	"	0,010
Cocaine	0,015	"	0,025
Morphine	0,003	"	0,037

J'ai ensuite essayé les liquides à culture au point de vue de la fermentation ammoniacale par le réactif de Nessler. Quelques-uns de ces liquides ont donné un très léger précipité rouge brique par le réactif, indice de la présence de sels ammoniacaux, mais ce fait est loin d'être constant, et la plupart des liquides ne l'ont pas donné.

Cette légère fermentation doit être évidemment attribuée à ce que certains champignons qui s'étaient développés avec rapidité avaient subi, à la fin de l'expérience, une légère altération de quelques filaments à la suite de l'épuisement du milieu nutritif.

Plusieurs autres séries de cultures, faites avec les mêmes liquides, stérilisés ou non, ou filtrés, ont donné des résultats absolument du même ordre. Je les mentionne avec seulement pour mémoire.

Penicillium glaucum.

Le 24 Novembre 1890 j'ai préparé une nouvelle série de liquides nutritifs que j'aiensemencés avec des spores de *Penicillium glaucum*. L'expérience a pris fin le 9 Décembre (9 jours après) - Voici les poids de Champignons obtenus:

Liquide à base de:	Poids de Champ. obtenus: (en grammes)	Gain sur liq. sans azote: (en grammes)	Perte sur liq. sans azote: (en grammes)
Sans Azote	0,030	"	"
Monométhylamine	3,658	3,628	"
Diméthylamine	3,099	3,069	"
Triméthylamine	2,750	2,720	"
Diéthylamine	2,088	2,058	"
Propylamine	2,963	2,933	"
Isobutylamine	1,810	1,780	"
Amylamine	2,678	2,648	"
Benzylamine	0	"	0,030
Naphtylamine	0	"	0,030
Diphénylamine	0	"	0,030
Pyridine	0,013	"	0,017
Caprine	0,049	0,049	"
Cocaine	0,010	"	0,020
Quinine	0,030	0	0
Morphine	0,002	"	0,020.

Remarques générales.

Si l'on compare maintenant entre eux le résultat de ces expériences, on voit qu'ils sont de même ordre.

De même que les Phénylamine et la Allyle, les Champignons peuvent puiser l'Azote qui leur est nécessaire dans ces combinaisons azotées organiques de l'ordre des amines, pourvu toutefois que le radical substitué à l'hydrogène, dans ces composés, ne possède pas des exposants trop élevés.

La naphthylamine et la Diphtylamine n'ont fourni aucun développement de Champignons dans la liqueur qui renfermait leur azote à cet état.

La Benzylamine s'est montrée un aliment très nuisible; Quant aux alcaloïdes ils n'ont pas non plus donné de bons résultats.

Si maintenant on compare entre eux le poids de Champignons obtenus avec les divers milieux et qu'on le rapproche de la composition chimique de ces azotes mis en présence, on pourra constater les faits suivants:

Plus la pesanteur moléculaire du radical substitué à l'hydrogène dans les amines est élevée, moins le rendement en Champignons est important.

Si l'on compare entre eux le poids de Champignons obtenus dans des liqueurs renfermant des amines provenant de la substitution du même radical à 1, 2 ou 3 H, par exemple ~~avec~~ les trois méthylamines, on verra que toujours c'est l'amine qui n'a qu'un H. de substitué par le radical qui donne le plus fort rendement; vient ensuite le liquide contenant l'amine à deux radicaux substitués, et en dernier lieu celui contenant l'amine à trois radicaux substitués.

Enfin, si l'on rapproche l'un et l'autre les résultats obtenus

avec des liquides renfermant des amines dont la formule brute est la même, mais provenant de la substitution, à l'hydrogène d'une ou de un radical seulement, l'autre de plusieurs radicaux à pesanteur moléculaire moins élevée, par exemple la propylamine et la triméthylamine, c'est le liquide renfermant l'amine à un seul radical substitué qui donnera le plus fort rendement.

Ces différents résultats définissent donc d'une manière absolue le pouvoir nutritif des amines vis-à-vis des Champignons.

Il est malheureusement à peu près impossible de les appliquer aux autres plantes, car les besoins d'azote de celles-ci sont beaucoup trop inférieurs à ceux des Champignons et par suite laissent trop de prise aux causes d'erreurs.

Chapitre IV.

Rôle exact joué vis-à-vis des végétaux par les amines qui ne peuvent servir seules à leur nutrition et par les alcaloïdes.

Expériences préliminaires.

Les recherches exposées dans le Chapitre précédent ont montré que certaines amines, naphthylamine, Diphenylamine, pyridine, etc., et les alcaloïdes, placés seuls comme éléments ajoutés dans une solution nutritive ne contenant d'ajout sans aucune autre forme, ne pourraient servir comme source d'ajout assimilable pour les végétaux.

Il me sera proposé dans les expériences qui vont suivre de chercher exactement comment se comportent ces substances vis-à-vis de végétaux et de préciser leur mode d'action : sont-elles toxiques, simplement inassimilables, ou bien font-elles faire des substances pour la plante à l'aide de certains artifices?

Les Champignons m'ont paru tout indiqués pour ces recherches : la rapidité de leur croissance, le poids initial de la semence, qui peut être considéré comme nul, enfin leurs besoins considérables d'ajout, permettant d'apporter dans l'étude de cette question une précision des plus difficiles à atteindre avec toute autre plante.

Pour savoir si les amines dont il s'agit ici et les alcaloïdes sont toxiques, il suffirait d'une expérience très simple.

Dans des liquides nutritifs, composés suivant une formule donnée, celle de Raubert par exemple, on introduit une certaine quantité de sels d'amines ou d'alcaloïdes à étudier, on y

seme quelques spores d'un Champignon ; Les solutions sont mises à l'étuve et on suit la marche de la végétation.

J'ai donc préparé la série suivante à mi lieux :

- 1° Liquide de Naulin type (terme de comparaison) 1/occ.
- 2° ——— id ——— + chlorhydrate de morphine 0g. 50
- 3° ——— id ——— + chlorhydrate de cocaïne 0g. 50
- 4° ——— id ——— + chlorhydrate de quinine 0g. 50
- 5° ——— id ——— + chlorhydrate de Diphénylamine 0g. 10
- 6° ——— id ——— + chlorhydrate de Naphthylamine 0g. 10
- 7° ——— id ——— + chlorhydrate de pyridine 0g. 50

Le 27 Janvier 1917 j'ai disposé dans chacun de ces liquides quelques spores d'*Aspergillus niger* et je les ai placés à l'étuve à 37°. L'expérience a été arrêtée le 10 Février.

Le contenu des vases cristallins a été jeté sur des filtres tarés ; le Champignon resté sur les filtres ont été lavés à l'eau distillée, puis séchés et pesés.

Un accident arrivé pendant le lavage de Champignon m'a empêché d'avoir la quantité exacte de Champignon formé dans le liquide à base de pyridine, dans lequel cependant j'aurais obtenu un beau développement de *A. Aspergillus*.

Voici le poids d'*Aspergillus* recueilli dans les autres cultures :

Liquides :	Poids de Champignon,	Gain sur le type	Perte sur le type :
Naulin, type.	1g. 375	"	"
Naulin + morphine	1. 580	0 g. 205	"
Naulin + cocaïne	2. 170	0. 795	"
Naulin + quinine	1. 598	0. 243	"
Naulin + Diphénylamine	0	"	1. 375
Naulin + Naphthylamine	0	"	1. 375

Ces expériences montrent que la Naphthylamine et la Diphenylamine sont réellement toxiques pour *S. Fergillus*, puisqu'elles ont arrêté son développement dans un liquide de Roulin normal.

D'autre part la pyridine et les alcaloïdes, lorsqu'ils étaient ajoutés à un milieu nutritif comme seule source d'azote, n'ont donné lieu à aucun développement de Champignon.

Mais, ajoutés supplémentairement à un liquide nutritif complet, ils n'ont pas arrêté ce développement. Ce résultat est la preuve de leur non toxicité vis-à-vis de *S. Fergillus*; et si, dans les expériences primitives, alors qu'ils étaient la seule source d'azote du milieu, le Champignon ne s'en pas développé, c'est simplement parce qu'il n'a pu, par ses propres moyens, détruire la molécule des composés azotés et s'emparer de leur azote.

Si maintenant on rapproche les poids de Champignon obtenus dans l'expérience qui précède de ceux obtenus avec le liquide de Roulin type, on voit que ces poids sont tous plus élevés que celui fourni par le milieu type.

Ceci permettrait de supposer que si les alcaloïdes employés seuls ne peuvent céder leur azote à la plante, ils pourraient bien être assimilés en présence d'azote minéral. Ce dernier agirait alors par lui-même ^{comme aliment directement assimilable} et servirait comme moyen d'entraînement vis-à-vis de l'azote organique, inassimilable lorsqu'il était seul.

D'autres expériences plus précises vont permettre de contrôler cette hypothèse.

Expériences définitives.

Ces expériences ont été faites en deux séries distinctes, l'une portant uniquement sur les amines (Diphenylamine, Naphthylamine); l'autre sur les alcaloïdes.

I. Amines.

Ces expériences ont porté sur la Diphénylamine, la Naphthylamine et la Pyridine, qui s'étaient jusqu'ici montrées impropres à la nutrition ajoutée des Champignons.

Pour définir le rôle exact joué par ces substances vis-à-vis des Champignons, j'ai préparé du liquide de Raubin auquel j'ai ajouté des quantités déterminées de ces amines ainsi qu'il est indiqué ci-après :

Liquide 1.	Liquide de Raubin type	150 cc	
— 2. —	— id —	+ chlorhydrate de Diphénylamine	0g. 20
— 3. —	— id —	+ — id —	0g. 10
— 4. —	— id —	+ chlorhydrate de Naphthylamine	0g. 20
— 5. —	— id —	+ — id —	0g. 10
— 6. —	— id —	+ chlorhydr. de Pyridine	0g. 20

150 cc. de chacun de ces liquides ont été déposés dans des cristallisoirs fermés exactement par un disque de verre, et ils ont été stérilisés à l'autoclave à 120°.

Ils ont été ensuite inoculés par quelques spores de *Aspergillus niger*; cette opération a été effectuée le 24 avril 1927.

Les bouchons ainsi préparés ont été placés dans une étuve à 33° et abandonnés jusqu'au 6 Mai.

Le contenu des cristallisoirs est alors jeté sur les filtres tarés; les champignons restés sur le filtre ont été lavés avec soin à l'eau distillée, l'eau de lavage étant réunie au liquide de culture; les champignons ont été alors séchés dans le filtre et pesés.

De leur côté les liquides de culture et de lavage ont été analysés pour y rechercher la quantité de substance ajoutée qu'ils contiennent encore.

Voici les quantités de Champignons obtenues :

Liquides :	Poids de Champignon	Gain sur liq. type	Perte sur liq. type.
1. type	0g. 990	"	"
2. Diphényl. 0,20	0	"	0g. 990
3. - - 0,10	0	"	0g. 990
4. Naphtyl 0,20	0	"	0g. 990
5. - - 0,10	0g. 108	"	0g. 882
6. Pyridine 0,20	1g. 132	0g. 112	"

Ces résultats montrent nettement le rôle toxique joué vis à vis de *S. Aspergillus* par la Diphénylamine et la Naphhtylamine, même employée à faible dose (0,07%).

Quant à la Pyridine, elle a donné un poids de Champignon supérieur à celui donné par le liquide de Raulin type, employé dans les mêmes conditions de température, de dilution et de durée.

Il y avait donc lieu de supposer que une partie ou même la totalité de chlorhydrate de Pyridine avait été absorbé par le Champignon qui s'en serait servi pour augmenter sa masse.

Pour vérifier cette hypothèse il suffirait de verser dans le liquide de culture et les eaux de lavage la quantité de chlorhydrate de Pyridine restant en solution.

Le procédé de dosage le plus précis consistait à précipiter la Pyridine à l'état d'iodomercure par l'iodure double de mercure et de potassium, puis à sécher et peser le précipité et à y doser *S. Aspergillus* par la méthode de Dumas. Du poids *S. Aspergillus* on déduit facilement la quantité de chlorhydrate de Pyridine restant dans le liquide.

Malheureusement, il faut pour faire cet essai un poids d'iodomercure relativement considérable, et en tout cas notable.

ment supérieur à celui que j'ai obtenu par la précipitation du liquide de culture. J'ai eu alors recours à l'artifice suivant :

J'ai pris 0g. 20 de chlorhydrate de pyridine (poide égal à celui mis en expérience), je les ai dissous dans 150 enc. d'eau distillée (volume égal à celui mis en expérience), et je les ai précipités par l'iodure d'or et de mercure et de potassium. Le précipité recueilli sur un filtre taré a été lavé, séché et pesé. Par comparaison du poids d'iodomercure obtenu sans ces conditions avec celui obtenu par précipitation du liquide de culture, on peut déduire avec une approximation suffisante la quantité de chlorhydrate de pyridine restant dans la liqueur, et par suite celle absorbée par le Champignon. Voici le résultat de ces expériences :

Poids d'iodomercure obtenu avec 0g. 20 de chlorhydrate de pyridine 0g. 932
 ——— id ——— avec le liquide de culture ——— 0g. 389.

Ceci correspond à $\frac{0,20 \times 0,389}{0,932} = 0g. 082$ de chlorhydrate de pyridine restant dans la liqueur.

Il y en a donc eu d'assimilé :

$$0,20 - 0,082 = 0g. 118.$$

Donc, si la pyridine n'est pas assimilable directement, elle peut le devenir si dans le liquide de culture on ajoute de l'azotate d'ammoniaque. L'azote ainsi introduit agit pour son propre compte comme source d'azote directement assimilable, et ensuite il opère une sorte d'entraî-
nement du chlorhydrate de pyridine qui peut alors être assimilé par le Champignon, tandis que seul il ne pourrait l'être.

II. Alcaloïdes.

Les résultats obtenus dans les recherches préliminaires ont montré que, tandis que le alcaloïde seul ne pouvait servir à la nutrition, ajouté des Champignons, lorsqu'on mettait en présence de ces composés de l'azotate d'ammoniaque, les Champignons s'y développèrent avec vigueur.

À l'examen final, on a constaté que le poids de Champignons obtenu dans de tels milieux était supérieur à celui obtenu avec le liquide type de Raubin.

Rapprochant ces résultats de ceux obtenus avec le chlorhydrate de Pyridine, il était permis de se demander s'il n'y avait pas là des faits analogues à ceux que l'on a constatés avec ce sel.

J'ai donc fait avec les alcaloïdes plusieurs séries d'expériences du même ordre que celles faites avec les amines directement assimilables, mais en prenant cette précaution de calculer les formules des milieux de telle sorte que l'azote apporté en supplément sous forme de sel d'alcaloïde soit constant pour tous les milieux.

Un liquide de Raubin type servira de terme de comparaison. Mais comme l'azote dans le liquide de culture de composés sous forme d'Alcohydats y déterminait un excès de chlore par rapport au type, j'ai calculé la quantité de chlore et de potassium exactement correspondante, qui a été surajoutée au liquide de Raubin.

L'excès de potassium introduit sous cette forme dans le liquide type a été compensé dans les autres liquides par la quantité de carbonate de potasse strictement nécessaire.

Il se forme ainsi du tartrate de potasse, mais toutes les expériences antérieures ont montré que ce sel s'assimilait tout

aussi bien que l'acide tartrique.

Voici les formules de ces divers liquides:

- A. - Liquide type. - Liquide de Naudin 150 cc. - Chlorure de potassium 0g. 468
- B. - Liquide à base de Morphine. - Liquide de Naudin 150 cc. - Carbonate de potassium 0g. 389. - Chlorhydrate de Morphine 1g. 112
- C. - Liquide à base de Cocaïne. - Liquide de Naudin 150 cc. - Carbonate de potassium 0g. 389. - Chlorhydrate de Cocaïne 1g. 910
- D. - Liquide à base de Quinine. - Liquide de Naudin 150 cc. - Carbonate de potassium 0g. 389. - Chlorhydrate de quinine 1g. 050.

N^e Série d'Expériences.

Le 11 Février 1897, j'ai disposé dans des vials en verre exactement par un liquide de verre 150 cc. de chacun des liquides précédents et je les ai stérilisés à l'autoclave à 120°.

Je les ai ensuite ensémenés avec quelques spores d'une culture pure d'*Aspergillus niger* préparés au moyen d'une aiguille de platine flambée. Les cultures ont été disposées à l'étuve à 37° et abandonnées à elle-même jusqu'au 5 Mars.

Les Champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, lavés et séchés, puis pesés. Voici les poids obtenus:

Liquides:	Poids de Champignon	Gain sur le lip. type.
Lip. A (type)	1g. 148	"
- B (morphine)	2g. 173	1g. 028
- C (Cocaïne)	1g. 468	0g. 320
- D (Quinine)	2g. 938	1g. 790

Ces résultats sont de même ordre que ceux des expériences précédentes: ils comportent dans tous les milieux ainsi composés

une augmentation de poids de Champignon par rapport à celui obtenu dans le liquide type.

2^e Série d'Expériences.

Le 9 Mars 1897 j'ai fait dans des liquides de même composition une nouvelle série de cultures d'*Aspergillus niger*. Les liquides avaient été au préalable stérilisés à l'autoclave à 120°. Les cultures ont été abandonnées à l'étuve à 37° jusqu'au 27 Mars.

Les Champignons ont été recueillis sur des filtres taris, puis lavés avec soin, séchés et pesés.

Les eaux de lavage ont été réunies aux liquides de culture, aux fins d'analyse, pour chercher s'il y avait eu assimilation des sels alcaloïdes.

Voici les poids de Champignons obtenus:

Liquide :	Poids de Champignons	Gain sur liq. type:
Liq. A (type)	0 g. 890	"
B (morphine)	2 g. 111	1 g. 221
C (Cocaïne)	1 g. 236	0 g. 346
D (Quinine)	2 g. 380	1 g. 490

Ces résultats sont absolument du même ordre que ceux de l'expérience précédente.

Ceci fait, j'ai analysé les liquides de culture de la même manière que j'avais fait pour le liquide à base de pyridine, pour y rechercher la quantité d'alcaloïde restant dans la solution.

Traité par l'iode double de mercure et de potassium tous les milieux de culture ont donné un précipité.

La précipité d'iodomercurate de morphine s'est effectuée sous forme gélatineuse. Le précipité retenait par suite une certaine quantité de sel mercurique qui pourrait difficilement être enlevé par le lavage et risquerait de fausser le résultat.

Je me suis donc borné à faire la recherche sur les milieux à culture à base de cocaïne et de quinine.

J'ai opéré par comparaison, comme dans le cas de la pyridine.

0g. 20 de Chlorhydrate de Cocaïne et de quinine ont été dissous respectivement dans une quantité d'eau distillée telle que la dilution du mélange soit sensiblement celle du liquide de culture. Ils ont été précipités par l'iodure double de mercure et de potassium; les précipités, recueillis sur du feltre taré, ont été lavés à l'eau distillée, séchés et pesés, et les poids obtenus comparés à ceux obtenus avec le liquide de culture.

I. - Cocaïne.

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0g. 20

de chlorhydrate de cocaïne pur ----- 0g. 598

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec

le liquide de culture de *S. Aspergillus* ----- 1g. 872

Ce poids correspond à $\frac{0,20 \times 1,872}{0,198} = 0g. 619$ de

Chlorhydrate de cocaïne restant dans le liquide.

Il en a donc été absorbé par le Champignon:

1. 910 - 0,619 = 1g. 291

II. - Quinine

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0g. 20

de chlorhydrate de quinine pur ----- 0g. 541

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec

le liquide de culture de *S. Aspergillus* ----- 0g. 900

Ce poids correspond à

$\frac{0,20 \times 0,900}{0,541} = 0g. 332$

12

de Chlorhydrate de quinine restant dans la liqueur?

Il en a donc été absorbé par le Champignon:

$$1.050 - 0.332 = 0g. 718$$

3^e Série d'Expériences.

Cette série d'expériences a porté sur les trois liquides:

A (type), C (à base de cocaïne), D (à base de quinine).

Ces liquides, contenus dans des cristallisoirs fermés exactement par une lame de verre, ont été stérilisés à l'autoclave à 120° et inoculés le 24 Avril 1917 à l'aide de quelques spores d'*Aspergillus niger*.

Les cultures ont été mises à l'étuve à 37° et l'expérience a pris fin le 6 Mai.

Les champignons ont été recueillis sur de filtres tarés, lavés à l'eau distillée, séchés & pesés. Les caux de lavage ont été réunies aux liquides de cultures afin de les analyser.

Voici les poids de Champignons obtenus:

Liquides:	Poids de Champignon	Pain sur liquide type.
Liq. A (type)	1g. 149	"
- C (cocaïne)	1g. 486	0g. 241
- D (quinine)	2g. 027	0g. 982

Ces résultats sont encore de même ordre que les précédents.

Les liquides de culture, réunis aux caux de lavage, ont été précipités au moyen de l'iode double de mercure et de potassium, et le poids de précipité comparés à ceux produits par des poids connus de Chlorhydrate de cocaïne et de quinine placés dans des conditions de dilution aussi semblable que possible à celles des liquides de culture.

I. - Cocaïne.

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0g. 20
 de chlorhydrate de Cocaïne pur ———— 0g. 598

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec la
 liqueur de culture de *S. Asperillus* ———— 0g. 840

Ce poids correspond à

$$\frac{0,20 \times 0,840}{0,598} = 0g. 949$$

de chlorhydrate de Cocaïne restant dans la liqueur.

Il en a donc été absorbé par le Champignon.

$$1,910 - 0,949 = 0g. 961$$

II. - Quinine.

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0g. 20
 de chlorhydrate de quinine pur ———— 0g. 541

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec la
 liqueur de culture de *S. Asperillus* ———— 1g. 010

Ce poids correspond à

$$\frac{0,20 \times 1,010}{0,541} = 0g. 373$$

de chlorhydrate de quinine restant dans la liqueur.

Il en a donc été absorbé par le Champignon.

$$1,010 - 0,373 = 0g. 637$$

Résumé.

Les expériences qui précèdent fournissent des résultats très importants.

La toxicité, même à très faible dose (0,07 %) de sels de Diphénylamine et de Naphthylamine est entièrement démontrée.

La Pyridine et les alcaloïdes que l'on a vus précédemment ne pouvoient suffire seuls à la nutrition azotée de végétaux ont pu être employés avec succès en présence d'azote.

assimilable, et dans des conditions telle qu'aucun agent extérieur ni poison intérieur.

Des expériences & dosages ont montré que l'assimilation
de ces substances, réputées jusqu'ici inassimilables, était réelle.

C'est ainsi que dans un laps de temps de 16 jours, j'ai pu
faire absorber à de l'*Aspergillus niger* 1gr. 291 de Chlorhydrate
de Cocaine et 0g. 718 de Chlorhydrate de Quinine et que le
résultat de cette absorption a été une augmentation de poids
de Champignons, par rapport à un liquide de Naubin sans
type, de 0g. 346 dans le 1^{er} cas et 1g. 450 dans le second, alors
que dans le liquide type le poids avait été de 0g. 890

Ces faits permettent d'envisager d'une façon nouvelle la question
de l'assimilation de l'Azote organique et aussi ~~le~~ le rôle
des alcaloïdes dans les végétaux.

De plus, la comparaison des poids de Champignons obtenus
avec les divers alcaloïdes employés montre que la grandeur molé-
culaire de l'alcaloïde joue le même rôle qu'elle a joué dans
le cas des substances directement assimilables. Plus cette
grandeur moléculaire est élevée, moins on obtient de Cham-
pignons.

Conclusions.

Les expériences qui viennent d'être rapportées dans les chapitres précédents mettent en lumière les faits suivants:

On admettait jusqu'ici que certains organismes: bactéries ou algues, pouvaient, soit seuls, soit vivant en symbiose entre eux ou avec certaines plantes, telles que les Légumineuses, fixer directement l'azote atmosphérique.

Les autres plantes devaient puiser leur azote dans le sol, mais ne pouvaient l'assimiler que s'il était sous forme d'azote nitrique ou ammoniacal (M. Müntz)

Les résultats expérimentaux que j'ai signalés plus haut montrent que, placés dans des conditions d'asepsie rigoureuse, et de telle sorte que les agents extérieurs ne puissent exercer aucune action, soit fermentescible, soit fixatrice d'azote libre, les plantes phanérogames peuvent emprunter l'azote qui leur est nécessaire à des composés organiques appartenant à la classe des amines, employés sous forme de sels. L'assimilation de ces substances peut avoir lieu sans que leur azote ait subi au préalable une transformation en azote nitrique ou ammoniacal.

Cette assimilation est en outre subordonnée à cette condition que les amines proviennent de la substitution à l'hydrogène de radicaux dont la grandeur moléculaire ne soit pas trop élevée: c'est ainsi que les méthylamines, par exemple, ont été l'excellentes sources d'azote assimilable, tandis que la benzylamine et la pyridine se sont montrées insuffisantes, la naphthylamine, la diphenylamine et l'aniline ont agi comme des toxiques puissants.

Les alcaloïdes, employés seuls comme source d'azote, n'ont

pu fournir à la plante l'azote qui lui est nécessaire.

On a pu également constater que, placés dans un milieu nutritif contenant de l'azote sous forme d'une combinaison aminée ou alcaloïdique inassimilable, les plantes ont perdu une quantité notable de leur azote initial.

Cette observation, répétée un assez grand nombre de fois, vient en confirmation des recherches de Boussingault, Schröder, Karsten et Frank qui, plaçant certaines plantes dans des conditions d'insatiation, avaient obtenu des pertes d'azote sensibles, contrairement à l'opinion généralement admise.

Les expériences que j'ai entreprises ne m'ont pas permis jusqu'ici de savoir sous quelle forme disparaît l'azote ainsi perdu, mais j'espère pouvoir bientôt combler cette lacune.

— Les Algues, placés dans des conditions de culture rigoureusement aseptiques, ont donné les mêmes résultats que les Phanérogames.

Elles ont assimilé dans d'excellentes conditions l'azote provenant d'amines dans lesquelles la grande molécule ou le radical substitué à l'hydrogène n'est pas trop élevé.

Moins difficile que les Phanérogames, elles ont pu végéter dans la Benzylamine, quoique plus difficilement au début que dans les autres milieux.

Dans tous les cas la transformation préalable de l'azote organique en azote nitrique ou ammoniacal n'a pas eu lieu et par suite peut être considérée comme inutile.

La naphthylamine et la diphenylamine se sont montrées dénuées d'une grande toxicité vis à vis des Algues, comme cela avait déjà eu lieu avec les Phanérogames.

Les alcaloïdes, employés seuls comme source d'azote, sont impropres à la nutrition des Algues.

Les expériences relatives à la nutrition des Champignons à l'aide des amines et alcaloïdes ont fourni des résultats plus précis encore que ceux obtenus avec les Phanérogames et les Algues. Les milieux nutritifs ayant été préparés de façon à avoir une composition élémentaire rigoureusement égale, quelle que soit la source d'Azote employée, il a été possible de mesurer en quelque sorte le degré d'assimilabilité des divers amines employés.

De même que les Phanérogames, les Champignons ont assimilé directement l'Azote provenant des amines les moins élevées en grandeur moléculaire, avec autant de facilité que s'il s'était agi d'azote nitrique ou ammoniacal.

La naphtylamine et la Diphénylamine n'ont donné lieu à aucun développement, de même que les alcaloïdes.

On a pu également constater que le poils de Champignons obtenu finalement était d'autant plus élevé que la grandeur moléculaire du radical substitué à l'hydrogène était moins

De plusieurs amines provenant de la substitution du même radical à 1, 2 ou 3 H (par exemple le triméthylamine), employées en quantités telles que le poids d'azote introduit dans le liquide nutritif soit égal pour toutes ces amines, les autres éléments restant également constants, c'est l'amine provenant de la substitution de un seul radical qui donne le plus fort rendement. Celle à deux radicaux substitués vient ensuite, et celle à trois radicaux donne la quantité de Champignons la plus faible.

Enfin, de deux amines possédant la même formule brute, mais provenant de la substitution à l'hydrogène l'une d'un seul radical, l'autre de plusieurs radicaux de grandeur moléculaire moindre (exemple: propylamine et triméthyl-)

amine) c'est l'amine provenant de la substitution de
un radical seulement qui donne le plus fort rendement.

— Des expériences ultérieures ont montré que la naph-
tylamine et la diphenylamine sont puissamment toxiques,
même à dose très faible (0,07 %).

— D'autre part la pyridine et les alcaloïdes employés
seuls comme source d'azote n'avaient pu servir à la
nutrition des Champignons. Il n'en est plus de même
si on les ajoute à un milieu nutritif contenant de
l'azote directement assimilable.

Celui-ci agit alors comme agent d'entraînement,
et on peut arriver à faire absorber aux Champignons des
 doses considérables de ces produits (jusqu'à 1g. 291 de chlorhydrate
de cocaïne et 0g. 718 de chlorhydrate de quinine en 16 jours
et par 1/10 cc. de liquide nutritif de Raulin). Cette
absorption d'alcaloïdes s'est traduite par une notable
augmentation du poids de Champignons recueillis (quelque
fois plus ou double)

En outre, des recherches du même ordre, faites avec
des liquides nutritifs de composition élémentaire égale, quelle
que soit la source d'azote employée, ont montré que les
mêmes règles qui gouvernent l'assimilation des amines
gouvernent aussi celle des alcaloïdes : plus la grandeur
moléculaire de l'alcaloïde est élevée, moins il est assimi-
lable.

— Dans un autre ordre d'idées, les résultats d'as-
similation obtenus avec les amines constituent un appoint
nouveau à l'étude des engrais et en particulier des fumiers.

On sait que les premiers phénomènes de fermentation des
fumiers s'accompagnent de productions importantes d'
amines. Il en est de même des marcs de betterave et

de fruits, fréquemment employés comme engrais, et aussi des masses énormes de mollusques ou de poissons de mer répandus, en guise de fumure, dans les champs des régions côtières.

On supposait que l'ajote organique résultant de leur putréfaction, avant d'être assimilé par les plantes, devait être transformé, d'abord en sels ammoniacaux, puis en nitrates par les ferments du sol.

Les expériences faites sur les trois classes de plantes: Phanérogames, Algues, Champignons, montrent qu'une telle succession de transformations est parfaitement inutile, puis que la plante est capable d'assimiler les amines inférieurs tout aussi bien que les nitrates. Elles expliquent par suite la rapidité d'action des fumiers sur la végétation.

— De leur côté, les résultats d'assimilation obtenus avec les alcaloïdes permettent de revenir sur la question du rôle des alcaloïdes dans les végétaux.

Rigoureusement inassimilables seuls, les alcaloïdes ont pu être largement absorbés en présence d'ajote directement assimilable. C'est probablement dans cette voie qu'il faudra chercher la cause de migration et de la disparition des alcaloïdes dans le corps de la plante à certaines époques de sa végétation.

Il est malheureusement regrettable que le besoin d'ajote des végétaux phanérogames, très faible par rapport à ceux des Champignons, ne permettant qu'avec les plus grandes difficultés de faire sur eux de semblables recherches avec toutes les garanties de précision nécessaires.

Mais, comme on a retrouvé, dans toute la série végétale la même manière de se comporter des plantes vis-à-vis des amines et des alcaloïdes, un rapprochement

des Phanérogames et des Champignons, sans le rapport de l'assimilation de alcaloïdes, peut être envisagé comme possible, et il semble y avoir de sérieuses probabilités en faveur de cette hypothèse.





