

QK
623
. E77
1882
c. 1
Sci

PLASME DES ASCOMYCÈTES

ET LE

GLYCOGÈNE DES VÉGÉTAUX.

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR

L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR AGRÉGÉ PRÈS LA FACULTÉ DES SCIENCES

DE

L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES

PAR

LÉO ERRERA

DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES.

BRUXELLES

H. MANCEAUX, ÉDITEUR, LIBRAIRE DE L'UNIVERSITÉ

12, RUE DES TROIS-TÊTES, 12

1882



L'ÉPIPLASME DES ASCOMYCÈTES

ET LE

GLYCOGÈNE DES VÉGÉTAUX.

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR

L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR AGRÉGÉ PRÈS LA FACULTÉ DES SCIENCES

DE

L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES

PAR

LÉO ERRERA

DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES.



BRUXELLES

H. MANCEAUX, ÉDITEUR, LIBRAIRE DE L'UNIVERSITÉ

12, RUE DES TROIS-TÊTES, 12

—
1882

Le Président de la Faculté des Sciences de l'Université de Bruxelles :

Vu l'article 31 du règlement du 9 mars 1878, ainsi conçu :

« Toute thèse imprimée sans l'autorisation du Président de la Faculté sera considérée comme non avenue et étrangère à l'Université; du reste, les opinions étant libres, le récipiendaire pourra présenter les résultats, quels qu'ils soient, de ses convictions personnelles; l'Université n'entend à cet égard rien approuver ni improuver. »

Autorise l'impression de la thèse présentée par M. LÉO ERRERA, docteur en Sciences naturelles, sur « l'épiplasma des Ascomycètes et le glycogène des végétaux ».

E. ROUSSEAU.

Bruxelles, 27 mai 1882.

UNIVERSITÉ DE BRUXELLES

ANNÉE ACADEMIQUE 1881-1882

MM. M.-L. VANDERKINDERE, recteur.
J. VAN SCHOOR, administrateur-inspecteur
L. DENIS, secrétaire-trésorier.

FACULTÉ DES SCIENCES.

MM. E. ROUSSEAU, professeur ordinaire, président.
L. GOEMANS, professeur extraordinaire, secrétaire.
J. KINDT, professeur émérite.

J.-E. BOMMER,

A. BUISSET,

J.-B. CHARBO,

P. DE WILDE,

A. JOLY,

G.-A.-V. ROMMELAERE,

H. WITMEUR,

E. YSEUX,

A. ZIMMER,

E. HANNOT, professeur extraordinaire.

J. VAN GINDERACHTER, professeur honoraire.

L. BOUVIER,

P.-A. DE FIGUEIREDO E MELLO, } docteurs agrégés.

M. MOURLON,

G. PILAR,

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
I. APERÇU HISTORIQUE	1
Érysiphées	3
Discomycètes	3
Tubéracées	3
Pyrénomycètes	3
Lichens	4
II. CARACTÈRES MICROCHIMIQUES DE L'ÉPIPLASME DES ASCOMYCÈTES	5
1. <i>Tuber melanosporum</i> et <i>T. æstivum</i>	5
2. <i>Tuber Magnatum</i> et <i>T. excavatum</i>	9
3. <i>Ascobolus furfuraceus</i>	9
4. <i>Ascophanus ochraceus</i>	9
5. <i>Elaphomyces</i> , <i>Peziiza pitya</i> , <i>P. granulata</i>	9
6. <i>Peziiza sclerotiorum</i>	9
7. <i>Peziiza vesiculosa</i>	10
Résumé	11
III. SUR LA MÉTHODE EMPLOYÉE POUR RECHERCHER LE GLYCOGÈNE DES VÉGÉTAUX	12
IV. EXTRACTION DU GLYCOGÈNE DES ASCOMYCÈTES	15
1. <i>Peziiza vesiculosa</i>	15
2. <i>Tuber melanosporum</i>	19
3. <i>Tuber æstivum</i>	20
Résumé	22
V. GLYCOGÈNE CHEZ D'AUTRES PLANTES	23
4. <i>Aethalium septicum</i>	24
5. <i>Agaricus campestris</i>	25
6. <i>Pilobolus cristallinus</i>	27
7. <i>Saccharomyces Cerevisiæ</i>	28

Copy 2

P 589.23
0200

670892

	Pages
8. <i>Lemanea annulata</i>	34
9. <i>Linum usitatissimum</i>	36
10. <i>Mahonia repens</i>	38
11. <i>Solanum tuberosum</i>	39
Synopsis	41
VI. RECHERCHE MICROCHIMIQUE DU GLYCOGÈNE	42
VII. RÉACTIONS DE L'IODE SUR QUELQUES PLANTES	47
Myxomycètes	47
Champignons	47
Algues vertes et brunes.	49
Floridées	50
Mousses	53
Phanérogames : Graines	53
Méristèmes et tissus jeunes ; monotropine	54
Tubes cribreux et latex	56
VIII. ÉVOLUTION ET RÔLE DU GLYCOGÈNE CHEZ LES PLANTES	57
IX. GLYCOGÈNES ET AMYLODEXTRINES	65
X. RÉSULTATS GÉNÉRAUX	73
Résumé	76
<hr/>	
THÈSES	79
<hr/>	

I

APERÇU HISTORIQUE.

Louis-René Tulasne a observé, il y a plus de trente ans, que le contenu des asques des Truffes se colore, à une certaine période de leur évolution, en « brun-rouge très foncé » sous l'influence de l'iode. Il constate que cette réaction fait défaut aux asques tout jeunes et qu'elle apparaît ensuite, pour diminuer d'intensité à mesure que les asques mûrissent; enfin, quand les spores ont achevé leur développement, la substance qui se colore en brun-rouge par l'iode a disparu ¹. Tulasne n'insiste pas davantage sur cette substance et ne semble point l'avoir traitée par d'autres réactifs; il la tient pour une matière albumineuse, ce qui, comme nous le verrons, est une erreur.

TULASNE.

Dix ans après, il retrouve et signale en passant une substance semblable dans les asques d'un autre Ascomycète, l'*Erysiphe Aceris* DC ².

Mais bientôt cette substance fait l'objet de recherches

¹ L.-R. Tulasne et C. Tulasne, *Fungi hypogæi*, Paris, 1851, p. 44; voir aussi pl. VII, fig. 1, 6 et l'explication de cette figure.

² L.-R. Tulasne et C. Tulasne, *Selecta fungorum carpologia*, I, 1861, p. 197: « humor autem quo thecæ replentur saturate eodem (iodo) fucatur, sicuti apud Tubera fieri solet ».

DE BARY.

plus approfondies. Dans son célèbre mémoire sur la fructification des Ascomycètes ¹, de Bary montre qu'elle est assez répandue chez ces Champignons; en même temps, il en précise l'évolution et en définit les caractères microscopiques. Chez plusieurs espèces, le contenu des asques se différencie, d'après lui, à un certain âge, en deux portions : l'une qui se colore en jaune par l'iode et dans laquelle naissent les spores, — c'est le protoplasme proprement dit; — l'autre, que de Bary appelle *épiplasma*, se distingue « par sa réfringence plus forte, son aspect homogène, brillant, et surtout par la teinte brun-rouge ou brun-violacé que lui communique une solution aqueuse d'iode, même très diluée ». L'auteur ajoute ² : « L'épiplasma du *Morchella* se colore à peine dans une solution de carmin, tandis que le protoplasme prend une vive couleur rouge, notamment dans les jeunes spores. Pour le reste, l'épiplasma concorde, dans ses propriétés essentielles, avec cette partie des cellules végétales qu'on désigne sous le nom collectif de protoplasme. Il n'est guère douteux que ce soit, comme le protoplasme, un mélange de diverses substances. En écrasant les asques, je crois même avoir observé plusieurs fois, directement, que l'épiplasma se séparait dans l'eau en une partie tout à fait homogène, à laquelle l'iode donne la coloration brun-violet, et une autre, granuleuse, qui devient jaune par l'iode. Je n'ai cependant pu l'établir avec certitude, à cause du mélange inévitable du protoplasme et de l'épiplasma, lorsqu'on écrase les asques. Il y a lieu de faire des recherches plus précises sur la nature chimique du corps qui se colore

Protoplasme et épi-
plasma.

¹ de Bary, *Ueber die Fruchtentwicklung der Ascomyceten*, Leipzig, 1863, pp. 8, 22-23 et passim; — Id., *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten*, Leipzig, 1866, p. 103-104.

² *Fruchtentwicklung*, p. 23.

en brun-violet ; on est porté à penser à quelque hydrate de carbone. Ce corps ne se trouve pas seulement dans les asques ; les cellules du réceptacle dans des exemplaires jeunes d'*Ascobolus (furfuraceus?)* présentent la même réaction par l'iode que l'épiplasme des asques ; il en est parfois de même des filaments mycéliens d'*Erysiphe* ».

L'épiplasme a été constaté, en 1863, par de Bary, dans les asques des Ascomycètes suivants, auxquels l'iode communique les nuances indiquées entre parenthèses ¹ :

Erysiphe Cichoracearum DC. (rouge-brun vif avec un léger reflet violet) ; *Peziiza confluens* Pers. (brun-rouge vif) ; *P. convexula* Fr. S. M. (brun-rouge vif) ; *Morchella esculenta* Pers. (brun-violet foncé) ; *Helvella esculenta* Pers. ; *H. elastica* Bull. ; *P. melæna* Fr. ; *P. Acetabulum* L. ; *P. cupularis* L. ; *P. tuberosa* Bull. (rouge-brun) ; *P. Candollei* Lév. ; *Phacidium Pinastris* Fr. (brun-violet vif, souvent violet presque pur) ; *Tuber brumale* Vitt. (rouge-brun foncé, teinté de violet) ; *T. melanosporum* Vitt. ; *T. rapæodorum* Tul. ; *T. æstivum* Vitt. En revanche, de Bary s'est assuré de l'absence d'épiplasme chez *Elaphomyces granulatus* N. ab E., *Peziiza pitya* Pers., *P. hemisphærica* Wigg., *P. calycina* Schum. ; il n'en a pas rencontré non plus chez *Xylaria polymorpha* Fr. ni aucun autre Pyrénomycète, pas plus que chez les Lichens.

Il revient en 1866 sur les Pyrénomycètes et dit ² : « Traité par l'iode, le contenu des asques des Pyrénomycètes ne prend, dans la plupart des cas étudiés, que la couleur jaune du protoplasme ; cependant chez *Sphæria obducens*, *Pleospora herbarum*, *Sordaria fimiseda*, *Sphæria Scirpi*, il se produit une réaction d'épiplasme

¹ *Fruchtentwicklung*, passim.

² *Morphologie und Physiologie*, etc., 1866, p. 105.

bien marquée : chez le premier, l'épiplasma apparaît en même temps que les spores, ou encore auparavant; chez les autres, ce n'est qu'après la formation des spores ».

Lichens.

Quant aux Lichens, qui ne sont plus aujourd'hui qu'un sous-ordre des Ascomycètes, il y a tout lieu de penser qu'ils peuvent aussi contenir de l'épiplasma. On sait que les lichénologues font un grand usage de l'iode comme moyen diagnostique. Mais, leur attention se portant surtout sur la réaction des membranes cellulaires, ils négligent le plus souvent de noter la coloration que prend le contenu. Cependant quelques-unes de leurs indications ont tout l'air de se rapporter à la substance caractéristique de l'épiplasma. En 1852, dans son beau mémoire sur les Lichens, Tulasne avait déjà dit que le protoplasme des stylospores d'*Abrothallus Smithii* Tul. rougit par l'iode¹. On trouve chez Nylander plusieurs données analogues : ainsi, chez *Myriangium Duriei* Mont. et Berk., le protoplasme des asques devient d'un brun vineux par l'iode; chez *Arthonia spilomatoides* Nyl. et *Chiodecton stalactinum* Nyl., il devient rouge vineux²; chez *Ephebe pubescens* Fr., il brunit³; etc.

Tulasne.

Nylander.

Schwendener.

de Bary.

Peut-être doit-on interpréter aussi comme des réactions d'épiplasma, la nuance brun foncé que la teinture d'iode communique, d'après Schwendener, au contenu des filaments ascogènes de *Cænogonium Linkii*⁴; et la couleur rouge-brun que de Bary a vu prendre au protoplasme des grandes spores d'*Ochrolechia pallescens* Mass., traitées par l'iode. Le contenu des filaments issus de ces spores n'est plus, au contraire, que du protoplasme ordinaire qui devient jaune par l'iode⁵.

¹ L.-R. Tulasne, *Mémoire sur les Lichens*, *Ann. Sc. nat.*, (3), XVII, 1852, p. 114 : « iode protoplasma fucatur ».

² Nylander, *Ann. Sc. nat.*, (4), III, 1855, pp. 146, 169, 173.

³ Id., *Synopsis methodica Lichenum*, I, 1858-1860, p. 90.

⁴ Schwendener, *Flora*, 1862, p. 231.

⁵ de Bary, *Ueber die Keimung einiger grosssporiger Flechten*, *Pringsheim's Jahrbücher*, V, 1866-1867, p. 211.

II

CARACTÈRES MICROCHIMIQUES DE L'ÉPIPLASME DES ASCOMYCÈTES.

En étudiant, il y a quelque temps, la genèse des spores chez les Truffes — que je me propose de décrire à une autre occasion — je ne pouvais manquer d'être frappé par l'épiplasma, d'autant plus qu'il gêne passablement l'observation. Quelques essais microchimiques m'ont fait soupçonner que la réaction brune de l'épiplasma est due à du glycogène; je l'ai vérifié par l'analyse chimique et, pour le dire tout de suite, l'hypothèse s'est trouvée exacte.

Je puis tout d'abord confirmer, point par point, les observations de de Bary que j'ai rapportées tantôt; j'ajouterai seulement que l'épiplasma diffère du protoplasme d'une façon encore plus complète que ce savant ne paraît l'indiquer.

Chez les Truffes (*T. melanosporum* Vitt., *T. aestivum* Vitt.), l'épiplasma tapisse la membrane des asques et forme une couche sphérique ou ellipsoïdale, qui entoure un espace intérieur rempli de protoplasme et de suc cellulaire. L'épiplasma est incolore, très réfringent, brillant et comme doué d'opalescence. Malgré son aspect homogène, on doit y distinguer deux éléments :

L'épiplasma absolument distinct du protoplasme.

1. *Tuber melanosporum* et *T. aestivum*.

Aspect de l'épiplasma.

Ses deux éléments.

une trame granulo-réticulée, très probablement de nature albuminoïde et, dans les mailles de cette sorte d'éponge, une solution concentrée de glycogène qui constitue la partie caractéristique et prépondérante de l'épiplasma. Il suffit, pour mettre en évidence ces deux éléments constitutifs, d'écraser un asque de Truffe sur le porte-objet, dans une solution *concentrée* d'iode dans l'iodure de potassium : l'épiplasma ne se mêle pas au liquide, il s'y coagule en une masse granuleuse, colorée en rouge-brun. Vient-on alors à presser légèrement sur le couvre-objet, on voit la substance colorée en rouge-brun se dissoudre peu à peu, tandis qu'il reste un squelette granuleux, teint en jaune. Pour peu que l'on dilue par addition d'eau distillée, le squelette granuleux se désagrège et se disperse aussi dans le liquide. — Quand on conserve des fragments de Truffes dans l'acide picrique concentré, l'épiplasma perd son homogénéité : il devient trouble, grossièrement granuleux et révèle très bien les deux éléments qui le composent. L'iode colore en rouge-brun le liquide qui baigne les granules et non les granules eux-mêmes. Par écrasement, on met ceux-ci en liberté et on remarque qu'ils sont jaunis par l'iode et insolubles, tandis que la partie fluide, rouge-brun, se dissout dans l'eau du porte-objet.

Sa solubilité.

Sa faculté d'imbibition.

Ces expériences prouvent encore que la substance caractéristique de l'épiplasma est soluble dans l'eau. En variant le liquide du porte-objet et en y écrasant les asques sous le microscope, on reconnaît de même que cette substance est soluble dans les alcalis et les acides, insoluble dans l'alcool et l'éther. Lorsqu'on traite les asques par le carbonate de soude en solution moyennement concentrée, ou qu'on les comprime doucement sous le couvre-objet, sans les briser, l'épiplasma se gonfle, — tantôt d'une façon régulière, en enserrant le protoplasme central dans une sphère de plus en plus petite, tantôt irrégulièrement, en venant se mêler au

protoplasme. Ce dernier cas se présente surtout quand on emploie une solution alcaline trop concentrée. Si l'on comprime modérément des asques dans l'alcool absolu, l'épiplasma coagulé se crevasse de fissures radiales, tout comme le font les grains d'amidon¹. Ses fissures radiales.

Sous l'action progressive de l'iode dans l'iodure de potassium, l'épiplasma devient jaune pâle, puis jaun-brun, enfin rouge-brun foncé — un rouge-brun semblable à celui des solutions concentrées d'iode dans l'iodure de potassium ou dans l'alcool. — Cette couleur disparaît à une douce chaleur et reparaît par le refroidissement. La présence d'eau est nécessaire, de même que chez l'amidon, pour que l'épiplasma prenne sa couleur caractéristique par l'iode. Des coupes de Truffe observées dans l'alcool absolu et additionnées de teinture d'iode, ne donnent pas la réaction : elles prennent une teinte jaune ; l'addition d'eau fait apparaître la couleur rouge dans l'épiplasma, en même temps que de l'iode se précipite dans le liquide du porte-objet. En rajoutant de l'alcool, les tissus, y compris l'épiplasma, reprennent la teinte jaune uniforme. Action de l'iode.

L'acide osmique, le perchlorure de fer, le réactif de Millon ne colorent pas l'épiplasma. L'épiplasma a la propriété de tenir en dissolution de l'oxyde de cuivre qui lui communique une teinte bleue. Pour le démontrer par voie microchimique, le mieux est de procéder de la façon suivante : des coupes fraîches de *Tuber aestivum* ou de *T. melanosporum* sont mises dans un tube à essais, contenant de l'eau distillée ; on ajoute quelques gouttes de potasse caustique et on fait bouillir un Os O⁴, Fe³ Cl⁶ et réact. de Millon.
L'épiplasma dissout de l'oxyde de cuivre sans le réduire.

¹ Sur les fissures des grains d'amidon, voy. Nageli, *Die Stärkekörner*, 1858, pl. XIII, et p. 39 sqq. — C'est un fait intéressant que le gonflement de l'épiplasma, de même que celui de l'amidon (W. Schimper, *Unters. üb. das Wachstum der Stärkekörner*, *Bot. Zeit.*, 1881, p. 4-5 du tiré à part), s'obtienne aussi bien par une pression modérée que par les alcalis.

instant, pour que le réactif pénètre partout. (On n'a pas à craindre que ce traitement ait modifié l'épiplasma, car si à ce moment on lave l'une des coupes et qu'on l'humecte d'une goutte d'iode dans l'iodure de potassium, on voit que l'épiplasma a persisté dans tous les asques où il se trouvait et qu'il affecte sa coloration caractéristique.) On laisse refroidir le tube, on y ajoute quelques gouttes d'une solution faible de sulfate de cuivre; il se précipite de l'hydrate cuivrique; on chauffe sans atteindre l'ébullition. On lave les coupes à l'eau et on constate au microscope que l'épiplasma y est devenu bleu pâle. Si on pousse jusqu'à l'ébullition, les coupes sont salies par de l'oxyde noir, mais on s'assure que l'épiplasma n'a pas réduit à l'état d'oxydure l'oxyde qu'il tient en dissolution.

L'épiplasma conserve très bien son aspect et ses caractères chimiques dans l'alcool absolu; dans l'acide picrique, il devient trouble, ainsi que je l'ai dit. Mais sa réaction par l'iode persiste toujours, qu'on ait traité les Truffes par l'alcool, l'alcool étheré, l'acide acétique faible, l'acide chromique à 1 %, l'acide picrique ou l'acide osmique.

Difficulté d'extraire l'épiplasma; son faible pouvoir diffusif.

Quoique soluble dans l'eau, la matière caractéristique de l'épiplasma est très difficile à extraire des asques : elle ne diffuse pas sensiblement à travers les membranes cellulaires. Des coupes très minces de Truffes, laissées en contact avec de l'eau froide, digérées pendant deux jours dans l'étuve à 30° centigrades avec du suc gastrique artificiel, ou bouillies dans l'eau pendant plusieurs minutes, conservent leur épiplasma. Même l'acide chlorhydrique dilué n'enlève l'épiplasma aux asques qu'après plusieurs minutes d'ébullition : encore y a-t-il tout lieu de croire qu'il l'a détruit avant de le dissoudre, car il n'est plus possible à ce moment de retrouver, ni dans les asques, ni dans la liqueur chlorhydrique, un corps qui colore l'iode en rouge-brun.

L'épiplasme, frais ou fixé par l'alcool absolu, qu'on examine entre nicols croisés, ne rétablit pas la lumière : il n'est donc pas biréfringent. L'épiplasme est isotrope.

Les asques de *Tuber Magnatum* Pico contiennent en abondance de l'épiplasme qui devient rouge-brun par l'iode. Cette espèce en présente même en assez grande quantité dans ses autres tissus, ainsi que *T. excavatum* Vitt., tandis que *T. æstivum* et *T. melanosporum* n'en offrent généralement que fort peu en dehors de leurs asques. 2. *Tuber Magnatum* et *T. excavatum*.

Ascobolus furfuraceus Pers. — Les asques, avant le moment de la formation des spores et peu après, renferment un bel épiplasme réfringent qui devient brun acajou par l'iode dans l'iodure de potassium. Le reste du tissu ne donne, en général, qu'une faible réaction d'épiplasme; ce n'est que lorsque le Champignon est tout jeune que la réaction y est abondante. Les membranes des asques et des spores jeunes se colorent en bleu pâle par l'iode. 3. *Ascobolus furfuraceus*.

Ascophanus ochraceus Boudier ¹. — Le contenu des asques, des spores jeunes et des cellules végétatives donne une abondante réaction d'épiplasme : l'iode y produit une couleur brun acajou intense; les membranes des asques deviennent bleues. 4. *Ascophanus ochraceus*.

Elaphomyces granulatus N. ab E., *Peziiza pitya* Pers. et *P. granulata* Bull., traités par l'iode dans l'iodure de potassium, ne m'ont pas présenté de coloration brune bien caractérisée. 5. *Elaphomyces, Peziiza pitya, P. granulata*.

Il en est tout autrement de *Peziiza sclerotiorum*. 6. *Peziiza sclerotiorum*.

¹ M. Fayod, de Bex en Suisse, a eu l'obligeance de me signaler cette espèce.

Lib. et surtout de *P. vesiculosa* Bull. Le premier contient assez bien d'épiplasme dans les asques demi-mûrs et un peu dans le tissu sous-jacent.

7. *Peziζa vesiculosa*. Quant au *Peziζa vesiculosa*, je ne connais pas d'objet plus favorable pour l'étude de l'épiplasme et de ses réactions. Par l'iode dans l'iodure de potassium, on voit d'abord bleuir les membranes des asques (notamment un petit bouchon terminal); peu après, tous les tissus du Champignon prennent une coloration brun acajou extraordinairement intense, à l'exception des paraphyses qui ne contiennent que du protoplasme ordinaire et deviennent jaunes. Dans les cellules végétatives, tout le contenu est teint en brun, par l'iode, d'une façon plus ou moins uniforme; dans les asques, au contraire, on distingue un protoplasme granuleux, teint en jaune, qui donne naissance aux spores, et un épiplasme, homogène et réfringent, coloré en brun. A en juger par les spécimens conservés dans l'alcool, le protoplasme s'accumule vers le sommet de l'asque et l'épiplasme immédiatement au dessous du protoplasme; mais quelquefois c'est l'inverse qui a lieu. J'ai vu les deux dispositions chez le même individu; dans les deux cas, la base de l'asque ne renferme que du suc cellulaire. L'épiplasme prend une couleur jaune paille par l'eau de brome; on sait que ce réactif colore l'amidon en jaune orangé.
- Abondance de l'épiplasme.
- Action de l'iode.
- Action du brome.
- Action de la chaleur.
- Deux éléments de l'épiplasme.
- Si l'on chauffe doucement une préparation microscopique traitée par l'iode, la couleur brune pâlit et disparaît; elle apparaît de nouveau par le refroidissement.
- On peut mettre ici en évidence, mieux encore que chez la Truffe, les deux éléments constitutifs de l'épiplasme: une matière colorable en brun acajou par l'iode et soluble dans l'eau, et une substance granuleuse, spongieuse, qui jaunit à peine par l'iode et que la première imbibe complètement. La partie soluble est du glycogène; le réseau granuleux est sans doute de nature

albuminoïde. L'alcool le coagule de façon à emprisonner la partie soluble; on peut alors couper un asque dans l'eau et mettre ainsi son épiplasma en contact direct avec le liquide, sans que rien se dissolve. L'expérience indiquée à propos des Truffes et qui consiste à écraser l'épiplasma dans une solution concentrée d'iode dans l'iodure de potassium, qu'on dilue ensuite, réussit également avec *P. vesiculosa*: la partie soluble, brune, se dissout et laisse un résidu jaune, de la même nuance que le protoplasme des paraphyses.

L'épiplasma reste incolore quand on le traite par l'acide osmique. Par le réactif de Millon, le protoplasme et les jeunes spores prennent après un temps variable, (15 à 20 minutes à froid, instantanément à l'ébullition) une belle teinte rose; l'épiplasma se colore à peine ou pas du tout.

Comme chez la Truffe, la partie soluble de l'épiplasma est difficile à extraire, ce qui ne peut tenir qu'à sa mauvaise diffusibilité: elle résiste à l'eau bouillante et à l'acide chlorhydrique étendu, agissant dix-huit heures à froid. Mais ce même acide la détruit en peu de minutes à l'ébullition.

En résumé, l'épiplasma se retrouve chez beaucoup d'espèces des divers groupes d'Ascomycètes. L'examen microscopique et microchimique prouve que c'est une masse demi-fluide et qu'elle est formée d'un réticulum, très probablement albuminoïde, tout imbibé d'une solution concentrée dont toutes les réactions concordent avec celles du glycogène animal. L'identité des deux substances est établie par les analyses qualitatives que je vais rapporter.

Os O⁴.

Réact. de Millon.

Difficulté d'extraire l'épiplasma.

Résumé.

III

SUR LA MÉTHODE EMPLOYÉE POUR RECHERCHER LE GLYCOGÈNE DES VÉGÉTAUX.

Méthode de Brücke. La méthode que j'ai suivie pour rechercher le glycogène et pour l'extraire des Champignons et d'autres végétaux, est celle de Brücke ¹. Dans quelques cas, j'ai été amené à la modifier légèrement.

Légère modification.

Précautions à prendre.

Brücke fait bouillir, comme on sait, les tissus à analyser avec de l'eau ou de l'eau additionnée d'un peu de potasse caustique; il précipite, dans la liqueur, les albuminoïdes et autres corps azotés, par l'acide chlorhydrique et l'iodure double de mercure et de potassium; il filtre et précipite le glycogène par l'alcool. — Je me suis souvent bien trouvé de précipiter dès l'abord par l'alcool, de reprendre par l'eau et de soumettre la solution aqueuse ainsi obtenue au traitement de Brücke.

Comme je ne me proposais pas de doser le glycogène (dosage toujours peu exact à cause de l'extrême difficulté de retirer les dernières traces de glycogène des

¹ E. Brücke, *Sitzungsberichte der Wiener Akademie*, LXIII, II, 1871, p. 214, et *Vorlesungen über Physiologie*, 3^{te} Aufl., Bd. I, 1881, p. 324-326. — Hoppe-Seyler, *Handbuch der physiolog.- und patholog.- chemischen Analyse*, 4^{te} Aufl., 1875, p. 132.

cellules), mais surtout de le reconnaître avec certitude et de le séparer d'autres hydrates de carbone qui pouvaient l'accompagner, je n'ai précipité les solutions aqueuses que par deux volumes d'alcool absolu, au lieu d'aller jusqu'à trois volumes, comme on le fait parfois. Je n'ai pas bouilli les organes végétaux avec une solution de potasse, mais seulement avec de l'eau, afin de dissoudre le moins possible de corps azotés et de ne pas devoir ajouter ensuite trop d'iodure de mercure et de potassium ; une autre raison pour éviter la potasse, c'est qu'elle modifie légèrement les propriétés du glycogène et le détruit en partie ¹, contrairement à ce que l'on a cru pendant longtemps. — Quand l'examen microscopique indiquait la présence d'amidon, les organes n'ont naturellement été épuisés qu'avec de l'eau froide.

Malgré ces précautions, l'analyse offre souvent quelque difficulté. Les produits d'oxydation bruns qui se forment à l'air dans beaucoup d'extraits végétaux sont particulièrement gênants, parce qu'il s'en attache de petites quantités au précipité de glycogène et qu'on a ensuite la plus grande peine à les éliminer. — Il est bon de remarquer que le glycogène n'est pas le seul hydrate de carbone, soluble dans l'eau froide, qui soit précipité de ses solutions aqueuses par l'addition de deux volumes d'alcool absolu : on verra au § IX que certains corps, voisins des dextrines (amylodextrines), sont encore dans ce cas ; l'inuline est aussi précipitée en partie quand elle est en solution assez concentrée. Il faut, chaque fois, une étude attentive pour savoir à laquelle de ces substances si analogues entre elles, on a affaire. On peut considérer comme caractères distinctifs du glycogène —

Difficultés de l'analyse :
Produits bruns.

Amylodextrines.
Inuline.

¹ von Vintschgau und Dietl, *Ueber die Einwirkung warmer Kalilösungen auf Glycogen*, *Pflüger's Archiv*, XIII, 1876, p. 253 ; — les mêmes, *Weitere Mittheilung über die Einwirkung von Kalilösungen auf Glycogen*, *ibid.*, XVII, 1878, p. 154.

ou, plus exactement, des glycogènes — l'opalescence nette des solutions aqueuses, le pouvoir rotatoire à droite et l'absence de toute réduction du réactif de Trommer. Au contraire, l'inuline, les dextrines et amylo-dextrines donnent des solutions plus limpides ; l'inuline est lévogyre ; les dextrines et amylo-dextrines typiques réduisent le réactif de Trommer, soit par elles-mêmes, soit (ce qui me paraît plus vraisemblable) parce que l'ébullition avec la potasse les saccharifie en partie. Mais il y a aussi chez les plantes des hydrates de carbone intermédiaires, participant à la fois des propriétés des glycogènes et de celles des dextrines ; et, dans l'état actuel de la science, il est à peu près indifférent de ranger ces corps sous l'une ou sous l'autre de ces deux rubriques.

Corps de nature intermédiaire.

Il n'est guère à craindre que l'on confonde les glycogènes avec les gommés et mucilages végétaux, quoiqu'ils leur ressemblent par quelques réactions : mais ceux-ci forment avec l'eau des sortes de gelées, tandis que les solutions de glycogènes sont bien fluides, malgré leur opalescence.

Gommés et mucilages.

C'est surtout chez les plantes supérieures qu'on se heurte aux difficultés dont j'ai fait ici mention. Pour l'épithème des Ascomycètes, qui nous occupe d'abord, l'analyse est plus simple et l'identité avec le glycogène du foie, évidente.

IV

EXTRACTION DU GLYCOGÈNE DES ASCOMYCÈTES.

1. Le premier Ascomycète analysé a été le *Peziiza* ^{1.}*Peziiza vesiculosa*. *vesiculosa* Bull. : la délicatesse de ses tissus, l'absence de pigments foncés, sa richesse en épiplasme le recommandaient également.

Trois exemplaires presque adultes, conservés dans l'alcool, ont été découpés en petits morceaux et additionnés d'eau bouillante. On laisse agir quelques heures et on filtre. Le liquide passe très opalescent, à peine acide. On y verse, goutte à goutte, de l'acide chlorhydrique et de l'iodure double de mercure et de potassium, jusqu'à ce qu'un excès de réactif ne produise plus de précipité. On filtre deux fois et on additionne la liqueur de deux fois son volume d'alcool absolu. Le précipité qui se forme et qu'on laisse se déposer pendant plusieurs heures est blanc, granuleux; le liquide surnageant est jaunâtre, limpide (A). On filtre; on lave le précipité, d'abord à l'alcool avec un tiers d'eau, puis à l'alcool absolu et on le dessèche dans le vide. Malgré cela, il adhère un peu au filtre et y forme, par places, un enduit gommeux. Une partie du précipité est détachée du filtre et constitue des grumeaux d'un blanc pur. Le reste,

Extraction du gly-
cogène.

Ses caractères :

dissous dans l'eau tiède, donne une liqueur très opalescente, neutre aux papiers réactifs, qui présente exactement toutes les propriétés des solutions de glycogène hépatique des Mammifères. En effet :

- 1) Iode. 1° La liqueur devient fauve, puis brune, par l'addition d'iode dans l'iodure de potassium ¹. Ces nuances sont identiques à celles que le glycogène provenant du foie (du chien) donne dans les mêmes conditions. La chaleur fait disparaître la coloration ; le refroidissement la fait réapparaître.
- 2) KOH et NaOH. 2° L'opalescence se dissipe par la potasse ou la soude caustiques.
- 3) Réact. de Trommer. 3° La liqueur additionnée d'abord de soude, puis de quelques gouttes de sulfate de cuivre, se colore en bleu en dissolvant l'hydrate cuivrique formé et ne précipite rien à l'ébullition (réactif de Trommer).
- 4) Saccharification par les acides. 4° Une partie de la liqueur additionnée de deux volumes d'eau et d'une dizaine de gouttes d'acide sulfurique faible, est bouillie pendant un quart d'heure. Après refroidissement elle est partagée en deux portions. L'une est traitée par le réactif de Trommer : elle bleuit en dissolvant à froid beaucoup d'hydrate cuivrique et donne, à l'ébullition, un beau précipité rouge d'oxydure de cuivre ; — l'autre reçoit un peu de sous-nitrate de bismuth et un excès de carbonate de soude : après quelques minutes d'ébullition, le précipité se colore en gris (réactif de Boettger).
- 5) Saccharification par la salive. 5° Par de la salive assez peu active (et exempte de sucre), la solution a bientôt perdu son opalescence, mais sans

¹ Pour s'assurer si une liqueur (neutre ou faiblement acide) colore l'iode, le mieux est de mettre dans deux tubes à essais de même diamètre des quantités égales d'une même solution iodée diluée ; on ajoute à l'un des tubes un peu de la liqueur à essayer, à l'autre, la même quantité d'eau distillée et on compare les colorations (Cf. Hoppe-Seyler, *Handbuch*, 4^e Aufl., p. 132).

acquérir, même au bout de deux heures à une température de 15-20° centigrades, la propriété de réduire l'oxyde de cuivre du réactif de Trommer : c'est évidemment le stade où le glycogène s'est transformé en une sorte de dextrine (glycogène-dextrine de Kühne ¹), mais n'a pas encore donné de sucre ². Plus tard, après quinze heures d'action, la liqueur réduit l'oxyde de cuivre et le sous-nitrate de bismuth. — Dans un autre essai, avec de la salive très active, la transformation en un corps réducteur s'est faite en peu de minutes.

6° Enfin la solution aqueuse opalescente, aussi bien que celle qu'on a éclaircie par la potasse, dévient fortement à droite le plan de polarisation. 6) Polariscopes.

Il est donc démontré que la substance caractéristique de l'épithélium de *Peziza vesiculosa* est du glycogène, identique, dans toutes ses propriétés étudiées, avec celui du foie.

J'ai voulu rechercher par la même occasion si l'extrait aqueux de *Peziza* renfermait à côté du glycogène des corps analogues aux dextrines, qui seraient encore solubles dans l'alcool avec un tiers d'eau, mais insolubles dans de l'alcool plus fort ; je n'en ai pas trouvé. Voici la marche suivie : le liquide alcoolique jaunâtre A (p. 15) a été neutralisé par le carbonate de soude en léger excès : quelques flocons se forment, on les sépare par filtration. La liqueur est ensuite concentrée au bain-marie ; il se dépose, à la fin, un composé de mercure, puis une matière colorante orangée. On filtre. La

¹ W. Kühne, *Lehrbuch der physiologischen Chemie*, 1868, p. 63.

² La réaction que je viens de rapporter n'est pas favorable à la théorie d'après laquelle le glycogène se *dédoublerait*, par l'effet des acides ou des ferments, en dextrine et sucre (maltose) ; il semble plutôt qu'il ne se forme d'abord que de la dextrine non-réductrice et ensuite seulement des corps réducteurs, du moins dans les conditions où j'ai opéré.

liqueur passe limpide, jaune clair. L'addition de trois volumes d'alcool absolu y provoque un trouble blanc, qu'on laisse déposer. Le dépôt, riche en soude, charbonne à la calcination. Il se dissout dans l'eau ; la solution transparente, à peine jaunâtre, alcaline, est acidulée par l'acide sulfurique. Elle ne colore pas l'iode, ne dissout ni ne réduit l'oxyde de cuivre, et ne donne pas de corps réducteur par un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique dilué.

Présence très probable de lichénine et d'isolichénine. Il me reste à mentionner un dernier fait. Si on laisse à l'air pendant une dizaine de jours, un tube à essais contenant une solution de glycogène de *Peziza* que l'on a brunie par un peu d'iode dans l'iodure de potassium, le liquide perd presque tout son iode libre et la teinte passe au bleu pâle. Le liquide bleu se décolore par une chaleur modérée et bleuit de nouveau par le refroidissement. L'addition d'un peu de la solution iodée ramène la couleur brune primitive. Il est facile de s'expliquer à quoi est due cette particularité, si l'on se rappelle que l'iode colore en bleu les membranes des asques de notre *Pezize* avant de brunir l'épipleme. Il y a tout lieu d'admettre que ces membranes sont formées, comme celles de beaucoup de Lichens, d'un mélange de *lichénine* insoluble dans l'eau froide et non colorable par l'iode, et d'*isolichénine* soluble dans l'eau froide, bleuisant par l'iode ¹.

Isolichénine.

Mulder.
Berg.

¹ Theodor Berg, *Zur Kenntniss des in der Cetraria islandica vorkommenden Lichenins und jodbläuernden Stoffes*, Dissert., Dorpat, 1872 ; — G. Dragendorff, *Die qualitative und quantitative Analyse von Pflanzen und Pflanzentheilen*, Göttingen, 1882, p. 255 — On admet encore généralement que la lichénine colore l'iode en bleu, mais c'est là une erreur, comme Mulder le soupçonnait déjà et comme Th. Berg l'a bien établi dans le petit travail que je viens de citer et qui est trop peu connu, à ce qu'il semble, même en Allemagne. D'après les recherches de Berg, la coloration bleue tient à un autre corps, isomère ou polymère, l'*isolichénine*, qui accompagne la lichénine et qu'il a réussi à

Cette dernière substance aurait alors nécessairement été extraite de la Pezize avec le glycogène et, à cause de sa solubilité dans l'eau froide et de son insolubilité dans l'alcool, elle aurait accompagné le glycogène lorsque celui-ci a été précipité. Enfin, comme elle a encore plus d'affinité que lui pour l'iode, c'est elle qui retiendrait les dernières traces d'iode libre, tandis que le moindre excès de ce réactif masquerait le bleu de l'isolichénine sous le brun du glycogène.

2. *Tuber melanosporum* Vitt. — Une Truffe du Périgord a été découpée en petits morceaux, triturée

2. *Tuber melanosporum*.

en séparer. Le nom d'isolichénine est dans Beilstein (*Handbuch der organ. Chemie*, 1881, p. 602); je n'ai pas pu découvrir qui en est l'auteur : c'est probablement Beilstein lui-même. Dans sa dissertation, Berg appelle ce corps simplement « *jodbläuer Stoff* »; Dragendorff se sert du nom assez impropre de « *Flechtenstärke* ».

Dragendorff.

— La lichénine des auteurs est un mélange de lichénine et d'isolichénine. Pour les propriétés de l'isolichénine, voir Berg, *loc. cit.* Berg a raison (*l. c.*, p. 9) de distinguer soigneusement l'isolichénine d'avec l'amidon soluble; il ajoute toutefois qu'il est probable que l'isolichénine dérive directement ou indirectement de l'amidon des cellules chlorophylliennes du Lichen. Cela peut être vrai pour les Lichens, mais il est certain qu'une réaction bleue des membranes cellulaires, due probablement à de l'isolichénine, se retrouve chez beaucoup d'autres Ascomycètes, qui ne renferment ni Algues, ni amidon.

Distinction d'avec l'amidon soluble.

La lichénine et l'isolichénine se rattachent plus aux gommés et mucilages végétaux qu'au groupe de la cellulose, de l'amidon ou de la dextrine, car ces deux substances précipitent par l'acétate basique de plomb, ne réduisent pas l'oxyde de cuivre et laissent à la calcination 1/3 % à 1 % de cendres.

Analogie avec les gommés et mucilages.

Il est probable que l'isolichénine existe encore ailleurs que chez les Ascomycètes : ainsi la coloration bleu pâle que les membranes cellulaires des cotylédons du Lin prennent par l'iode dans l'iodeure de potassium, tient sans doute à un corps très analogue à l'isolichénine. On en peut dire autant de l'*amyloïde* de Schleiden et Frank et de plusieurs des exemples cités par Mohl (*Einige Beob. üb. die blaue Färbung der vegetabilischen Zellmembran durch Jod*, *Flora*, 1840 ou *Vermischte Schriften*, p. 335).

Linum usitatissimum.

« Amyloïde » de Schleiden et Frank. Mohl.

Extraction du gly- dans un mortier et traitée par l'eau bouillante. On
cogène. filtre. Il passe un liquide brun-rouge, qu'on additionne
d'acide chlorhydrique et d'iodure de mercure et de
potassium; on filtre de nouveau. Le liquide filtré est
brun, opalescent. On ajoute deux volumes d'alcool
absolu, on laisse reposer plusieurs heures et on filtre :
on obtient ainsi un précipité blond, granuleux. Dissous
dans l'eau et précipité de nouveau par trois volumes
Ses caractères. d'alcool absolu, il forme sur le filtre un enduit collant
qui est redissous dans l'eau. La solution ainsi obtenue
est jaune très clair, un peu opalescente, neutre; elle
brunit très faiblement l'iode dans l'iodure de potassium;
ne réduit pas directement le réactif de Trommer; perd
son opalescence par un quart d'heure d'ébullition avec
de l'acide sulfurique très dilué et réduit alors l'oxyde de
cuivre.

Le *Tuber melanosporum* renferme donc du glyco-
gène. Mais, quoique l'analyse microchimique en révèle
d'assez grandes quantités, on ne parvient à en extraire
que fort peu : c'est que les asques arrondis glissent sous
le pilon sans se déchirer. Si l'on regarde au microscope
les fragments qui ont été triturés et bouillis, et qu'on
les humecte d'une solution iodée, on y retrouve encore
presque tout l'épithème inaltéré.

3. *Tuber aestivum*. **3. *Tuber aestivum* Vitt.** — On éprouve la même
peine à extraire le glycogène de cette Truffe que de la
précédente. J'ai pris environ 200 grammes de *T. aesti-*
Extraction du glyco- *vum* jeunes que j'ai pelés avec soin, découpés et hachés.
gène. J'ai obtenu de la sorte un peu plus de 100 grammes de
hachis; j'ai trituré dans un mortier de porcelaine et j'y
ai versé de l'eau chaude. La masse, filtrée à travers un
linge, donne un liquide trouble, blond pâle, à réaction
un peu acide. Ce liquide est concentré au bain-marie,
sans atteindre l'ébullition, et filtré. Il passe brunâtre,
opalescent. L'acide chlorhydrique et l'iodure de mercure

et de potassium n'y produisent qu'un léger trouble blanchâtre, qui est éliminé par filtration. Le liquide filtré est blond, opalescent et ne précipite plus par HCl et $HgI^2, 2KI$. J'y ajoute deux volumes d'alcool absolu : il se produit un précipité blanc, grumeleux et fibrineux, abondant. Filtré. Il passe une liqueur jaune, limpide (B). Le précipité blanc, qui brunit un peu à l'air, est dissous dans l'eau après avoir été lavé à l'alcool avec un tiers d'eau, puis à l'alcool absolu. Sa solution aqueuse, neutre, est concentrée au bain-marie et reprécipitée par deux volumes d'alcool absolu. Les flocons fibrineux et le précipité granuleux ainsi formés sont recueillis sur un filtre, lavés à l'alcool et dissous dans l'eau bouillante. Cette dernière solution est d'un brun très clair, neutre, un peu opalescente. Elle colore faiblement en brun l'iode dans l'iodure de potassium : la nuance est bien celle du glycogène hépatique et diffère de la teinte brune que la solution présentait déjà auparavant. Elle ne réduit pas le réactif de Trommer, mais acquiert la propriété de le réduire après un quart d'heure d'ébullition avec un peu d'acide sulfurique dilué. C'est donc du glycogène. Il n'est pas impossible que ce glycogène soit mélangé d'une certaine quantité d'un corps analogue à la *dextrane* de Scheibler ou à la *gomme de levure* de Béchamp et Nägeli¹, et provenant probablement des membranes cellulaires; ce qui expliquerait la précipitation sous forme de flocons fibrineux². A côté des flo-

Ses caractères.

Dextrane; gomme de levure.

¹ Scheibler, *Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie*, Bd. XXIV, p. 309 (résumé dans Just, *Botan. Jahresh. für 1874*, p. 804); — Béchamp, *Comptes rendus*, t. LXXIV, p. 187; — Nägeli et Loew, *Sitzungsb. Akad. München*, Bd. VIII, 1878, p. 161.

² Je note ici, une fois pour toutes, que dans aucunes de mes autres analyses les corps que je rattache au glycogène ne se sont précipités sous une forme fibrineuse par l'alcool (différence d'avec la dextrane) : le précipité était toujours plus ou moins finement granuleux.

cons, l'alcool précipite du reste, je l'ai dit, une substance granuleuse. La réaction par l'iode et le fait que la solution est opalescente et non gélatineuse, prouvent aussi que le liquide renferme bien du glycogène, comme les réactions microchimiques le faisaient prévoir.

Présence d'un corps analogue aux dextrines. Les corps du groupe des dextrines ont encore été recherchés dans la liqueur B. Une nouvelle addition d'alcool produit dans cette liqueur un précipité blanc jaunâtre, un peu visqueux, adhérant bientôt au vase; il charbonne fortement à la calcination, se boursoufle beaucoup et laisse une cendre très blanche. Lavé à l'alcool absolu, puis traité par l'eau, il donne une solution jaunâtre, légèrement acide, non opalescente.

Ses caractères.

La solution ne brunit point par l'iode; additionnée de potasse et de sulfate de cuivre, elle dissout en bleu l'hydrate formé et précipite un peu d'oxydure à l'ébullition; son pouvoir réducteur n'augmente pas sensiblement par un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique très dilué. Notre extrait aqueux de *T. æstivum* renferme donc un corps plus ou moins analogue aux dextrines et difficile à saccharifier. C'est probablement un produit de transformation (*post mortem?*) du glycogène de l'épiplasme; en tous cas, il rappelle l'une des dextrines obtenues par l'action des ferments sur le glycogène : *achroodextrine* de Musculus et von Mering, *dystropodextrine* de Seegen¹. Ces auteurs mentionnent expressément la résistance de cette dextrine vis-à-vis des ferments et des acides.

Achroodextrine ;
dystropodextrine.

Résumé.

Les analyses que je viens de rapporter en détail montrent qu'il existe du glycogène chez le *Peziŕa vesicu-*

¹ Musculus und von Mering, in *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie*, II, 1878, p. 403; et *Comptes rendus*, t. LXXXVIII, 1879, p. 87; — Seegen, in *Pflüger's Archiv*, Bd. XIX, 1879, p. 106.

losa, le *Tuber melanosporum*, le *T. æstivum*. Il est désirable que d'autres Ascomycètes soient encore examinés à ce point de vue. Mais les caractères microscopiques et microchimiques de l'épiplasme sont si analogues dans tous les Ascomycètes qui en renferment, qu'il est à peine douteux, dès maintenant, que tout épiplasme contienne du glycogène.

V

GLYCOGÈNE CHEZ D'AUTRES PLANTES.

Plusieurs questions se présentent à l'esprit. Les Ascomycètes sont-ils les seuls végétaux qui aient du glycogène? Et s'ils ne sont pas les seuls, cette substance est-elle du moins spéciale aux organismes — animaux et plantes — qui sont incapables de décomposer l'acide carbonique? Le glycogène serait-il, en un mot, l'amidon des êtres sans chlorophylle? Ou bien le retrouve-t-on chez les plantes les plus diverses?

Sans doute, on n'avait constaté jusqu'ici la présence du glycogène que chez une seule plante : un Myxomycète, l'*Aethalium septicum*. Encore est-ce, comme on sait, un de ces organismes limitrophes que le zoologue

et le botaniste revendiquent tour à tour. Mais les analyses dont il me reste à donner les résultats montrent que le glycogène ou des substances extrêmement voisines se rencontrent chez des Champignons qui ne sont pas ascomycètes, et chez des plantes qui renferment de la chlorophylle.

4. *Aethalium septicum*

4. *Aethalium septicum* Fr. (*Fuligo varians* Sommf.).

Indication du glycogène par Kühne.

— Bien que les traités de botanique et de chimie végétale les plus récents n'en parlent pas, le glycogène de la « fleur de tan » a été découvert par Kühne dès 1868. Voici tout ce qu'il en dit : « Le protoplasme contractile des Myxomycètes (*Aethalium septicum*) contient de très notables quantités de glycogène, dont l'identité avec celui du foie et des muscles embryonnaires est facile à établir ¹ ». Tout dernièrement, le fait a été confirmé de plusieurs côtés : par Berend (dans le laboratoire de Kühne), par Külz, par Reinke et Rodewald ². Je n'ai pas cru nécessaire de soumettre l'*Aethalium* à une nouvelle analyse, mais j'ai cherché à constater, par voie microchimique, sous quelle forme le glycogène s'y trouve.

Confirmations récentes.

Examen microchimique : Plasmodies.

Les plasmodies se colorent en brun orangé par l'iode dans l'iodure de potassium. Cette réaction ne s'étend

¹ W. Kühne, *Lehrbuch der physiologischen Chemie*, 1868, p. 334.

² Berend, cité dans Krukenberg, *Vergleichend physiol. Studien, Zweite Abtheilung*, Heidelberg, 1880, p. 55; — Külz, *Pflüger's Archiv.*, XXIV, 1881, p. 65; — Reinke und Rodewald, *Studien über das Protoplasma*, 1881, pp. 34, 169. — Ces derniers auteurs estiment à environ 4 3/4 % la quantité de glycogène de l'*Aethalium*. Une si notable accumulation fait prévoir que l'*Aethalium* ne renferme pas, du moins à ce stade, de ferment diastatique qui saccharifierait le glycogène; et, en effet, Kühne n'y en a pas trouvé (cité dans Krukenberg, *Unters. aus dem physiol. Institut der Universität Heidelberg*, II, 1878, p. 273).

pas à la couche marginale hyaline (hyaloplasme, « Rand-schicht », « Hautschicht »); elle n'intéresse que le protoplasme granuleux (polioplasme, « Körnerplasma »), mais je n'ai pas pu décider avec certitude si la substance que l'iode brunit forme de très petites gouttelettes ou si elle imbibe, à l'état de dissolution, la masse protoplasmique. La deuxième alternative me paraît la plus vraisemblable. Ce qui est certain, c'est que le glycogène n'occupe pas ici, comme dans les asques des Ascomycètes, une région distincte et circonscrite. Quand on écrase, sous le verre-couvreur, la plasmodie traitée par l'iode, elle passe du brun orangé au jaune : le glycogène se dissout dans l'eau du porte-objet, comme nous l'avons vu chez les Ascomycètes, et il reste un squelette protoplasmique.

L'iode colore en brun le contenu des cellules arrondies et réfringentes des sclérotés; leur membrane prend une belle teinte rose. Ici encore, le contenu passe au jaune lorsqu'on l'amène au contact de l'eau, par écrasement de la cellule. Le glycogène imprègne sans doute uniformément tout le contenu granuleux, car il ne m'a pas été possible de le localiser dans des gouttelettes spéciales.

Sclérotés.

5. *Agaricus campestris* L. — Sous le microscope, on voit surtout la couche sous-jacente aux jeunes basides se colorer en brun fauve par l'iode dans l'iodure de potassium. Mais la nuance n'est pas une de celles que le glycogène donne d'ordinaire.

5. *Agaricus campestris*. Examen microchimique.

L'analyse chimique ne m'a pas non plus révélé avec certitude l'existence du glycogène chez le Champignon de couche.

Recherche du glycogène.

Cinq exemplaires frais, jeunes, ont été découpés, triturés dans un mortier et arrosés d'eau bouillante. L'extrait filtré est acide et d'abord brun pâle; il fonce considérablement à l'air, ce qui gêne l'analyse. On précipite

les albuminoïdes par HCl et $\text{HgI}^2, 2\text{KI}$; on filtre deux fois, on ajoute deux volumes d'alcool absolu et on laisse se déposer le précipité brun, granuleux, qui s'est formé. Le liquide alcoolique filtré est jaune (C).

Caractères de la substance extraite.

Le précipité n'adhère pas au vase comme le font les dextrines. Dissous dans l'eau et reprécipité par l'alcool, il conserve sa couleur brune. Dissous de nouveau dans l'eau, il donne une solution d'un brun foncé, neutre, sans opalescence, qui brunit l'iode (mais comme la solution est elle-même très brune, cela n'est pas probant), et ne réduit, ni ne précipite à l'ébullition le réactif de Trommer. Après un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique très dilué, la couleur brune a persisté, mais la solution a acquis la propriété de réduire abondamment le réactif cupro-alkalin. Notre solution contient donc quelque hydrate de carbone; il se peut que ce soit une sorte de glycogène, mais la matière brune qui l'accompagne rend si incertains l'essai par l'iode et l'examen de l'opalescence, que je m'abstiens de tirer une conclusion.

Présence d'un corps analogue aux dextrines.

Le liquide C renferme une substance soluble dans l'alcool avec un tiers d'eau, mais insoluble dans l'alcool fort. Ce liquide, neutralisé par le carbonate de soude, concentré au bain-marie, filtré et additionné d'un grand excès (cinq volumes) d'alcool absolu, dépose en effet lentement une masse visqueuse, brune, qui colle au vase au point qu'on décante sans peine le liquide surnageant, sans en rien entraîner. Cette masse visqueuse, lavée à l'alcool, est reprise par l'eau. La solution est brune; traitée par le réactif de Trommer, elle dissout beaucoup d'hydrate cuivrique en se colorant en bleu-vert et précipite assez bien d'oxydure à l'ébullition. Le pouvoir réducteur paraît augmenter par un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique très étendu. Nous avons donc là un corps analogue aux dextrines; ce n'est ni de la mannite, ni de la mycose (tréhalose), car ces deux

substances ne réduisent l'oxyde de cuivre que difficilement ou pas du tout ¹.

Il diffère de la mannite et de la tréhalose.

6. *Pilobolus cristallinus* Tode. — La difficulté de réunir une quantité assez considérable de cette Mucorinée et de la débarrasser tout à fait des animalcules qui l'accompagnent, m'a empêché d'en faire l'analyse. Mais ses réactions microchimiques sont si nettes qu'il n'y a, je pense, guère de doute qu'elle renferme du glycogène en abondance.

6. *Pilobolus cristallinus*.

Le contenu de la grande cellule renflée qui porte le sporange prend, sous l'action de l'iode dans l'iodure de potassium, une teinte brun acajou intense. La substance colorable en brun, que je regarde comme du glycogène, imbibe tout l'utricule protoplasmique dont la paroi cellulaire est intérieurement tapissée. Ce glycogène s'amoncele, par places, en de petits monticules qui proéminent dans la cavité de la cellule et paraissent avoir la consistance d'un empois d'amidon. Sous une légère pression du verre-couvreur, on les voit souvent se détacher de l'utricule protoplasmique et nager quelque temps dans le suc cellulaire sous forme de gouttes plus ou moins sphéroïdales qui changent leurs contours en se dissolvant peu à peu. Si l'on écrase le *Pilobolus* sur le porte-objet, dans une solution iodée, le glycogène se dissout et produit un nuage brun dans le liquide; la coloration se dissipe par une chaleur modérée, pour réapparaître par le refroidissement. Quand la cellule a été écrasée et que le glycogène s'est dissous, le résidu protoplasmique se montre coloré par l'iode en jaune d'or. La

Examen microchimique.

Présence de glycogène.

Ses caractères.

Membrane cellulaire.

¹ Müntz (*Comptes rendus*, LXXVI, 1873, p. 649; — *Ann. Chim. et Phys.*, 1876, VIII, p. 56) a signalé la mannite chez l'*Agaricus campestris* et la tréhalose chez plusieurs autres Champignons. Il a trouvé, en outre, chez le *Boletus cyanescens* « un sucre capable de réduire la liqueur cupro-potassique, qu'il n'a pu isoler assez complètement pour en déterminer la nature ».

- membrane de la cellule devient rose ou rose brunâtre par l'iode, dans sa partie claviforme voisine du sporange, et généralement jaunâtre à sa base renflée en bulbe ¹.
- Cristalloïdes. Les cristalloïdes ² deviennent d'un beau jaune citrin sous l'influence du même réactif; ils ne se décolorent point par la chaleur.
- Spores. Les spores de *Pilobolus* renferment aussi des quantités notables de substance que l'iode colore en brun acajou.
- Oxalate de calcium. Claude Bernard a indiqué dans l'amnios des Ruminants des cristaux d'oxalate de chaux qu'il regarde comme des produits d'oxydation du glycogène ³; il est intéressant de rapprocher de cette observation, l'oxalate de chaux du *Pilobolus* et de beaucoup d'autres Champignons ⁴.

7. *Saccharomyces Cerevisiae*. Analyses antérieures. 7. *Saccharomyces Cerevisiae* Meyen. — La levure de bière a été bien souvent soumise à l'analyse chimique; on n'y a encore jamais indiqué de glycogène ⁵. Je crois

¹ Cf. Klein, *Zur Kenntniss des Pilobolus*, *Pringsheim's Jahrb.*, VIII, 1872, p. 334-337. Cet auteur a également constaté, sans l'interpréter toutefois, la couleur brun-rouge du contenu, après l'addition d'iode, et il ajoute que cette réaction se retrouve chez les autres Mucorinées. — Eug. Coemans (*Bull. Acad. roy. Belg.*, t. VIII, 1859, p. 204, et *Mém. Sav. étr. Acad. Belg.*, t. XXX, 1861, p. 19) avait déjà vu que la membrane cellulaire du *Pilobolus* se colore en rose pâle par l'iode. Quant au protoplasme, ses observations (p. 20) sont moins satisfaisantes. Ajoutons que Coemans signale (*ibid.*) l'existence probable de la cholestérine chez ce Champignon.

² Klein, *loc cit.*, p. 337; — Van Tieghem, *Ann. Sc. nat.* (6), I, 1875, p. 26.

³ Cl. Bernard, *Leç. s. les phénom. de la vie communs aux animaux et aux végétaux*, 1878-1879, t. I, p. 237-238; t. II, p. 68-70.

⁴ de Bary, *Morph. und Physiol. der Pilze, Flechten und Myxomyceten*, 1866, p. 13-14; — Klein, *loc cit.*, p. 338.

⁵ Les anciennes analyses se trouvent réunies et discutées dans Schützenberger, *Les Fermentations* (Bibl. sc. intern.), 1875,

pourtant qu'elle en renferme et il y a même lieu de penser que plusieurs chimistes l'ont déjà eu sous les yeux dans leurs extraits de levure, sans le reconnaître. La grande importance de l'étude de la levure justifie quelques détails à ce sujet.

D'après Nägeli ¹, il est au plus haut degré probable que le mucilage qu'on trouve dans les extraits aqueux de levure provienne de la membrane ; et que le contenu cellulaire ne renferme pas d'hydrates de carbone (lato sensu) en quantité digne d'être mentionnée.

Nägeli et Loew.

Cette opinion ne concorde pas très bien avec les faits observés par d'autres chimistes. Ainsi, Pasteur ² a constaté qu'il se forme beaucoup de sucre par l'ébullition de la levure avec de l'acide sulfurique étendu, lorsque la levure a été bien nourrie ; et Schützenberger et Destrem déduisent de leurs analyses que, lorsque la levure vit dans l'eau distillée, elle détruit dans sa propre substance « une matière hydrocarbonée qui, au contraire, reste ou est remplacée pendant la fermentation ³ ». La matière détruite ne saurait consister uniquement en graisse, puisque l'autophagie de la levure donne, comme on sait, de l'alcool ; ce ne saurait être de la glycose : la levure en renferme à peine. Enfin il est peu vraisemblable que la levure emploie comme combustible la cellulose de ses membranes et forme de l'alcool *directement* aux dépens de cette cellulose. Toutes ces données portent donc à penser, contrairement à l'opinion

Pasteur, Schützenberger et Destrem.

chap. IV. — Depuis lors, il y a surtout à citer au point de vue des hydrocarbonés, les analyses de Nägeli et Loew (*Sitzungsb. der math.-phys. Classe d. k. bayr. Akad. d. Wiss.*, VIII, 1878, p. 161-188) et celles de Schützenberger et Destrem (*Comptes rendus*, t. LXXXVIII, 1879, pp. 287, 383.)

¹ *Loc. cit.*, p. 166.

² *Comptes rendus*, XLVIII, p. 640, cité dans Schützenberger, *Fermentations*, pp. 58-59, 89-90.

³ *Comptes rendus*, LXXXVIII, p. 289.

Connaissant le pouvoir rotatoire du glycogène (+ 211° Son pouvoir rota- suivant Kütz, + 226°,7 suivant Boehm et Hoffmann ¹), toire. on calcule que le pouvoir rotatoire d'un mélange tel que celui que je suppose serait d'environ + 65° à + 70°, si l'on admet que la matière gommeuse soit inactive ou peu active sur la lumière polarisée. Or, Loew a trouvé + 78°. Béchamp avait indiqué + 59° à + 61°. La divergence entre les chiffres de Béchamp et de Loew s'explique tout naturellement s'ils ont examiné des mélanges et non des substances pures.

J'ai traité à diverses reprises, sous le microscope, des Examén microchi- cellules de levure par une solution assez concentrée mique. d'iode dans l'iode de potassium. La plupart d'entre elles deviennent alors jaune d'or, mais il y a quelques individus — peut-être 5 à 6 % — qui prennent une coloration d'un rouge-brun acajou, comme le fait le glycogène. Les cellules des deux sortes ne présentent aucune autre différence; on observe du reste des transitions entre ces deux nuances extrêmes ².

J'ai fait plusieurs essais pour isoler le glycogène que Essais d'extraire le glycogène. je supposais exister dans la levure, mais je n'ai pas réussi à l'obtenir pur et inaltéré. J'ai toutefois extrait un corps très voisin du glycogène, comme on va le voir.

Environ 300 grammes de levure fraîche ont été écrasés peu à peu dans un mortier avec de petites quantités d'éther, puis introduits dans un grand ballon avec 1500 centimètres cubes d'eau distillée et 250 centimètres cubes d'éther ³. On secoue fortement et on acidifie par

¹ Kütz, *Pflüger's Archiv*, t. XXIV, 1881, p. 88; — Boehm et Hoffmann, *Arch. f. exper. Pathol.*, t. VII, p. 492.

² Regnault (*Cours élém. de chimie*, 6^{me} éd., t. IV, 1869, p. 186) a déjà vu que, par l'effet de l'iode, l'enveloppe des cellules de levure « ne se colore pas, mais le liquide intérieur prend une couleur brune ». C'est tout ce qu'il dit de cette réaction.

³ L'éther sert à tuer la levure, comme Hoppe-Seyler (*Medic.-chem. Unters.*, p. 500) l'a conseillé.

l'acide chlorhydrique, pour détruire les ferments diastatiques éventuels. J'ai laissé digérer à froid pendant 17 heures, après quoi j'ai neutralisé avec du carbonate de soude et chauffé au bain-marie environ 3 heures, sans atteindre l'ébullition. Le liquide filtré est brunâtre et très opalescent. Une portion traitée d'après la méthode de Brücke ne m'ayant pas donné de bons résultats, j'ai essayé sur une autre portion de précipiter dès l'abord par 2 volumes d'alcool absolu; le précipité obtenu, lavé à l'alcool avec un tiers d'eau et redissous dans l'eau, donne une solution à peine alcaline, qu'on chauffe presque à l'ébullition pour éliminer une partie des albuminoïdes et n'avoir pas à employer ensuite trop de réactif mercurique. On filtre; on précipite le reste des substances azotées par l'acide chlorhydrique et l'iodure double de mercure et de potassium, jusqu'à ce qu'un excès de ce réactif ne produise plus de trouble nouveau. La liqueur filtrée est alors additionnée de 2 1/2 volumes d'alcool absolu. Il se forme un précipité blanc, abondant, qu'on lave avec un mélange de 2 1/2 volumes d'alcool et 1 volume d'eau, et qu'on dissout dans l'eau. La solution, filtrée plusieurs fois, est très opalescente, presque laiteuse, faiblement acide.

Obtention d'un corps voisin du glycogène. Ses caractères.

- 1) Iode. 1° Elle colore l'iode dans l'iodure de potassium d'une manière à peine sensible : le réactif iodé ne brunit pas, mais sa teinte jaune pâlit un peu moins qu'avec une égale quantité d'eau distillée.
- 2) NaOH. 2° L'opalescence disparaît par l'addition de soude caustique.
- 3) Réactif de Trommer. 3° La solution, traitée par le réactif de Trommer, dissout en bleu l'hydrate cuivrique formé, mais ne le réduit pas à l'ébullition.
- 4) Saccharification par les acides. 4° Après un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique étendu, l'opalescence a disparu et la liqueur, qui dissout beaucoup d'hydrate cuivrique, donne à l'ébullition un beau précipité d'oxydure; elle présente

les réactions de Moore et de Boettger, mais elle ne réduit pas l'acétate de cuivre acidulé par l'acide acétique (réactif de Barfoed ¹. — D'après cela, l'acide sulfurique a très probablement transformé notre substance en maltose (le pouvoir réducteur paraissant trop grand pour une dextrine).

Maltose.

5° Au contraire, la solution n'a pas acquis la propriété de réduire le réactif de Trommer par l'action de la salive prolongée pendant 18 heures, à la température ordinaire. Le mélange de notre solution et de la salive saccharifie cependant, en peu d'instant, une solution de glycogène hépatique, ce qui prouve que le résultat négatif ne tenait ni à la salive employée, ni à la présence de quelque corps qui aurait détruit l'efficacité du ferment salivaire.

5). Non-saccharification par la salive.

D'après tous ces faits, la substance que j'ai extraite de la levure ressemble beaucoup au « *xanthoglycogène* » que Boehm et Hoffmann ont obtenu en traitant par du sang défibriné du glycogène hépatique dissous dans une solution de chlorure de sodium à 3/4 % ². Comme le xanthoglycogène, notre substance se distingue du glycogène ordinaire par la faible coloration en jaune qu'elle prend par l'iode; et de l'*achrooglycogène* des deux auteurs que je viens de nommer, par la forte opalescence de ses solutions.

Xanthoglycogène.

Rapprochée des observations microchimiques et des données de Nægeli et Loew qui ont obtenu une substance brunissant par l'iode, notre analyse paraît établir que

Conclusion : la levure contient probablement du glycogène.

¹ Barfoed, *De organiske Stoffers kvalitative Analyse*, Kjøbenhavn, 1878, p. 223. — Musculus et von Mering (*Hoppe-Seyler's Zeitschrift f. physiol. Chemie*, II, p. 403) ont montré que la maltose n'agit pas sur le réactif de Barfoed.

² Boehm und Hoffmann, *Ueb. die Einwirkung von defibrinirtem Blute auf Glykogenlösungen* (*Arch. f. exp. Pathol.*, X, 1879, p. 1) et *Beitr. z. Kenntniss d. Glykogens und seiner Derivate* (*ibid.*, p. 12).

la levure renferme du glycogène typique, en quantité variable sans doute d'après l'état de nutrition des individus. Dans les opérations assez longues auxquelles j'ai dû soumettre ce glycogène, il se serait transformé en un corps semblable au xanthoglycogène.

Difficulté de le saccharifier par la salive. La difficulté de le saccharifier par la salive ne doit pas étonner outre mesure, puisque Kühne a déjà constaté que « l'on obtient parfois du glycogène qui se transforme immédiatement par l'ébullition avec les acides, mais ne donne du sucre qu'après plusieurs heures, sous l'action des ferments ¹ ».

8. *Lemanea annulata*. — Examen microchimique : Absence d'amidon. 8. *Lemanea annulata* Kützg. — Cette Floridée d'eau douce ne renferme pas de grains d'amidon : Nägeli l'a déjà reconnu ²; mais elle a, en abondance, un autre hydrate de carbone qui semble se rapprocher à la

Présence d'un corps analogue au glycogène. fois du glycogène et de l'amidon. Lorsque des fragments décolorés par un séjour dans l'alcool, sont humectés d'iode dans l'iodure de potassium, le protoplasme très réfringent des spores devient d'un brun-rouge foncé qui peut aller jusqu'au noir. Tout le reste du tissu se colore aussi en brun, mais moins fortement. Cette coloration tient partout au contenu cellulaire; les membranes des

Coloration en brun, parfois en violacé, des spores par l'iode. cellules restent incolores. Le protoplasme des spores, traité par l'iode et écrasé dans l'eau du porte-objet, apparaît formé de granules bruns qui ne se dissolvent, ni ne se décolorent sensiblement; j'aurai à revenir au § IX sur cette particularité. Dans quelques cas, la coloration par l'iode est plus violacée ou rougeâtre; jamais bleue.

Chlorophylle. Je me suis assuré, par l'examen au spectroscope, que l'extrait alcoolique de *Lemanea* offre les bandes d'absorption caractéristiques de la chlorophylle ³.

¹ Kühne, *Lehrb. d. physiol. Chemie*, 1868, p. 63.

² Nägeli, *Die Stärkekörner*, 1858, p. 532.

³ Nebelung *Bot. Zeit.*, 1878, col. 397-399) a déjà signalé chez le *Lemanea* une matière colorante verte, soluble dans l'alcool et

Pour l'extraction du corps analogue au glycogène, douze touffes sporifères, conservées dans l'alcool, ont été finement découpées et écrasées dans un mortier. On fait bouillir la masse, pendant une dizaine de minutes, avec de l'eau et on filtre. Une petite portion du liquide a été additionnée d'acide chlorhydrique et d'iodure double de mercure et de potassium : il ne se forme aucun précipité. Le traitement au mercure est donc ici superflu. On concentre le reste de la solution (qui est à peine acide) au bain-marie, on filtre et on ajoute 2 volumes d'alcool absolu. Il se dépose, par le repos, un léger précipité grumeleux, d'un blanc à peine jaunâtre ; on filtre (D). On lave le précipité à l'alcool et on le dissout dans l'eau. Cette solution est jaunâtre, opalescente, neutre ; elle brunit l'iode dans l'iodure de potassium ; perd, en grande partie, son opalescence par l'addition de soude caustique ; dissout en bleu pâle de l'hydrate cuivrique, sans le réduire à l'ébullition ; et acquiert après un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique dilué, la propriété de réduire abondamment les réactifs de Trommer et de Boettger, en même temps que l'opalescence a disparu.

Le *Lemanea* renferme donc une sorte de glycogène ; il est probable qu'il en est de même du *Batrachospermum* et de beaucoup d'autres Floridées.

La liqueur alcoolique D qui filtre après dépôt du corps analogue au glycogène, se trouble encore un peu par un grand excès d'alcool ; mais la substance qui constitue le précipité n'appartient pas au groupe des dextrines.

Comme j'avais obtenu fort peu du corps analogue au glycogène et que les fragments de *Lemanea* qui avaient

extrêmement analogue à la chlorophylle. Voir aussi Pringsheim, *Ueb. natürl. Chlorophyllmodifikationen und die Farbstoffe der Florideen* (Monatsb. Berl. Akad., Dezemb. 1875, p. 752).

Première analyse :
Obtention d'une
sorte de glyco-
gène.

Ses caractères.

Absence de
dextrine.

Deuxième analyse :
Obtention d'un
corps semblable à
la glycogène-dex-
trine.

Ses caractères. servi à cette analyse renfermaient encore beaucoup de substance brunissant par l'iode, je les ai épuisés de nouveau, cette fois avec une solution étendue et tiède de soude caustique. Le rendement a été bien plus considérable, seulement le corps glycogénique avait subi par là de légères altérations dans ses propriétés : il faut surtout noter que sa solution, même assez concentrée, était à peine opalescente et qu'elle se colorait en violet rougeâtre pâle, par l'addition de très peu d'iode dans l'iodure de potassium ¹. D'ailleurs, elle prenait, par un peu plus d'iode, la même nuance brune que le glycogène hépatique; n'opérait pas une trace de réduction sur le réactif de Trommer, mais le réduisait abondamment après un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique faible.

On voit que la soude caustique transforme le corps glycogénique de *Lemanea* en une substance très analogue à la *glycogène-dextrine* de Kühne, dont il a déjà été question à propos de la Pezize. von Vintschgau et Dietl ont constaté ² la naissance d'un corps semblable par l'action de la potasse caustique sur le glycogène du foie.

9. *Linum usitatissimum*. — Examen microchimique de la graine : Absence d'amidon. Huile. Granules protéiques. Membranes. 9. *Linum usitatissimum* L. — L'examen microchimique de la graine mûre révèle dans les cellules des cotylédons l'absence d'amidon, beaucoup d'huile noirissant par l'acide osmique et prenant par l'iode dans l'iodure de potassium des nuances variées, du jaune à peine sensible au brun; et, en outre, des granules protéiques, auxquels la solution iodée communique une teinte brun doré. L'iode colore en bleu pâle les membranes cellulaires du tissu des cotylédons, réaction semblable à celle de l'isolichénine ³. — Le contenu de

¹ Cf. infra, § IX.

² v. Vintschgau und Dietl, *Pflüger's Archiv*, XVII, 1878, p. 154.

³ Cf. supra, p. 19, note.

quelques assises de cellules brunit uniformément par l'iode et renferme peut-être du glycogène. Dans les premiers jours de la germination, cette coloration brune par l'iode devient plus nette près du point végétatif, dans les plus jeunes feuilles, dans les couches sous épidermiques de l'hypocotyle, dans les cotylédons. Les tissus un peu plus âgés se teignent au contraire en jaune. La coloration brune pâlit quand on chauffe la préparation, mais réapparaît à peine par le refroidissement. La tige présente un peu d'amidon. Je suis porté à voir une sorte de glycogène dans la substance qui imbibe le protoplasme et brunit par l'iode. Ce qui est certain, c'est que les jeunes plantes de Lin contiennent, là ou ailleurs, une sorte de glycogène; bien que l'extraction en soit difficile et le rendement minime, son existence ne paraît pas douteuse après l'analyse suivante :

Coloration brune par l'iode.

Examen microchimique de la jeune plante.

Extraction d'un corps voisin du glycogène.

J'ai fait germer du Lin et l'ai récolté au bout de dix à douze jours. Les plantes dépassaient la terre de 2 à 4 centimètres; elles n'avaient encore développé que leurs deux cotylédons verts. Elles sont arrachées avec leurs racines et soigneusement débarrassées de la terre *et des restes d'enveloppes séminales*. Non desséchées, elles pèsent 185 grammes.

On les découpe, on les pile dans un mortier de marbre, on ajoute à *froid* (pour ne pas dissoudre d'amidon), environ 350 centimètres cubes d'eau distillée, on passe à travers un linge et on filtre. La liqueur est additionnée de 2 volumes d'alcool absolu. Le précipité brun qui se forme est dissous dans l'eau fortement acidulée par l'acide chlorhydrique pour détruire la diastase. Cette solution filtrée, traitée par l'iodure double de mercure et de potassium et filtrée de nouveau, reçoit deux volumes d'alcool absolu : il se produit un léger précipité blanchâtre qu'on laisse déposer. On le recueille sur un filtre, on le lave à l'alcool, puis on le détache du filtre pour le dissoudre dans l'eau distillée. On obtient

ainsi une solution (E) à peine acide, un peu jaunâtre et opalescente.

- Ses caractères.
- 1) Iode. 1° Elle colore faiblement l'iode en brun. Pour rendre la coloration plus évidente, il suffit de conserver pendant quelques jours deux tubes à essais contenant la même quantité de la même solution iodée, l'un avec quelques gouttes du liquide E, l'autre avec tout autant d'eau distillée : on voit la différence de coloration s'accroître de plus en plus, parce que l'iode est retenu par le corps glycogénique.
 - 2) Na O H. 2° L'opalescence disparaît par la soude caustique.
 - 3) Réact. de Trommer. 3° Par le réactif de Trommer, on constate une légère dissolution bleue d'hydrate cuivrique, sans aucune formation d'oxydure à l'ébullition.
 - 4) Saccharification par les acides. 4° Après que la solution E a été bouillie un quart d'heure avec de l'acide sulfurique dilué, elle donne, avec le réactif de Trommer, un beau précipité rouge d'oxydure.

10. *Mahonia repens*.
Examen microchimique : Substance qui brunit l'iode.

Amidon.

Recherche du glycogène.

10. *Mahonia repens* G. Don. — Tous les tissus jeunes des bourgeons foliaires et floraux prennent par l'iode dans l'iodure de potassium, une nuance brun acajou des plus intenses. La matière colorable paraît à la fois imbiber le protoplasme et être dissoute dans le suc cellulaire. La teinte brune diminue par la chaleur, sans toutefois disparaître par le refroidissement. Les cellules contiennent aussi un peu d'amidon, en petits grains, et des granules (protéiques?) irrégulièrement arrondis, que l'iode colore en rouge cuivré.

J'ai soumis à l'analyse 60 grammes de jeunes bourgeons ; je n'ai pris que les portions tout à fait tendres, non lignifiées. Ces bourgeons sont écrasés dans un mortier de marbre et traités par trois fois leur poids d'eau froide ; la masse est passée à travers un linge et filtrée. On obtient un liquide brun, acide, très opalescent, qu'on précipite avec deux volumes d'alcool absolu. Le

précipité, lavé à l'alcool, détaché du filtre et dissous dans l'eau tiède, fournit une solution à peine acide qui n'a plus d'opalescence sensible. On ajoute de l'acide chlorhydrique et de l'iodure double de mercure et de potassium jusqu'à précipitation complète, on filtre et on traite la liqueur filtrée par 2 1/2 volumes d'alcool absolu. Il ne se produit qu'un léger trouble; on recueille, on lave à l'alcool et on dissout dans l'eau tiède. La solution ainsi obtenue est neutre, à peine jaunâtre, non opalescente. Elle brunit nettement l'iode dans l'iodure de potassium; dissout en bleu un peu d'hydrate cuivrique qu'elle ne réduit pas à l'ébullition et donne, après un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique étendu, un précipité d'oxydure de cuivre par le réactif de Trommer.

Obtention d'un corps analogue à la glycogène-dextrine.

Le *Mahonia* renferme donc aussi un corps très voisin du glycogène; la non réduction du réactif de Trommer l'éloigne des dextrines et amylo-dextrines ordinaires, dérivées de l'amidon; le brunissement par l'iode parle contre l'inuline. Les réactions que je viens d'énumérer concordent au contraire absolument avec la glycogène-dextrine de Kühne dont il a déjà été plusieurs fois question. On peut se demander si les pousses de *Mahonia* contiennent une sorte de glycogène qui se serait légèrement modifié dans le courant des opérations analytiques, ou si elles renferment de la glycogène-dextrine. Comme celle-ci représente sans doute une des étapes que le glycogène parcourt dans la plante, il est possible que le *Mahonia* renferme à la fois des substances analogues à ces deux corps si voisins.

11. *Solanum tuberosum* L. — Les couches cellulaires subépidermiques des tubercules de pomme de terre ne contiennent pas de grains d'amidon, mais un liquide qui se colore en jaune-brun par l'iode.

11. *Solanum tuberosum*. — Examen microchimique des tubercules.

Pour y rechercher les hydrates de carbone solubles, Recherche du glycogène.

j'ai découpé finement 250 grammes de pelures (= épiderme et quelques assises sous-jacentes) de pommes de terre non germées, j'ai trituré dans un mortier de marbre et additionné d'eau *froide*. Le liquide filtré, brun, légèrement acide est neutralisé avec du carbonate d'ammoniaque, puis concentré au bain-marie et refiltré. J'ai ajouté un lait de chaux et j'ai précipité ensuite par un courant d'acide carbonique et quelques gouttes d'acide sulfurique, dans l'espoir d'éclaircir la liqueur, mais elle est restée brune. Elle est ensuite exactement neutralisée par l'acide sulfurique, concentrée encore au bain-marie, filtrée, précipitée avec de l'acide chlorhydrique et de l'iodure double de mercure et de potassium, jusqu'à ce qu'un excès de ce réactif ne la trouble plus, refiltrée, additionnée de deux volumes d'alcool absolu et filtrée de nouveau. On obtient ainsi une liqueur limpide, jaune, acide (F) et, sur le filtre, un précipité blanc, caséux, qu'on lave à l'alcool.

Obtention d'un corps analogue à l'achrooglycogène. Le précipité charbonne fortement et laisse à peine des cendres. Il n'adhère pas aux vases comme font d'ordinaire les dextrines. Dissous dans l'eau, il donne une liqueur limpide, avec un léger ton jaunâtre, sans opalescence, neutre. Cette liqueur ne colore pas l'iode; elle dissout en bleu pâle l'hydrate cuivrique du réactif de Trommer, sans le réduire à l'ébullition, mais réduit ce même réactif et celui de Boettger, après qu'on l'a bouillie un quart d'heure avec de l'acide sulfurique très dilué. La pomme de terre renferme donc un corps que l'on peut indifféremment regarder comme un achrooglycogène (Boehm et Hoffmann) non opalescent ou comme une achroodextrine (Brücke) non réductrice, non visqueuse et peu soluble dans l'alcool.

Présence d'un corps analogue aux dextrines. La liqueur F contient encore une substance analogue aux dextrines. Concentrée au bain-marie, sans atteindre l'ébullition, et additionnée d'un grand excès d'alcool, elle laisse déposer un précipité blanchâtre, visqueux,

qui adhère bientôt au vase. On filtre, on lave le précipité à l'alcool et on le dissout dans l'eau; il fournit une solution limpide, un peu brunâtre, qui ne colore pas l'iode, devient d'un beau bleu verdâtre avec le réactif de Trommer et précipite une trace d'oxydure à l'ébullition; après un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique très faible, la liqueur réduit abondamment ce même réactif et modérément celui de Boettger.

Le tableau suivant résume les analyses. Lorsqu'il n'y a pas d'indication dans une colonne, c'est que la substance correspondante n'a pas été recherchée; le signe \pm indique un corps voisin de celui qui est inscrit après ce signe. Pour le détail, je prie de recourir au texte.

Synopsis.

NOM DU VÉGÉTAL.	CORPS du GROUPE DU GLYCOGÈNE.	CORPS ANALOGUE aux dextrines réduisant le réactif de Trommer.	GRAINS d'amidon.	CHLOROPHYLLE.
1. <i>Peziiza vesiculosa</i> Bull.	Glycogène.	Non.	Non.	Non.
2. <i>Tuber melanosporum</i> Vitt.	Glycogène.	—	Non.	Non.
3. <i>Tuber æstivum</i> Vitt. . .	Glycogène.	Oui.	Non.	Non.
4. <i>Aethalium septicum</i> Fr.	Glycogène.	—	Non.	Non.
5. <i>Agaricus campestris</i> L.	\pm Glycogène?	Oui.	Non.	Non.
6. <i>Pilobolus cristallinus</i> Tode	Glycogène.	—	Non.	Non.
7. <i>Saccharomyces Cerevisiæ</i> Meyen.	Glycogène ou \pm Xanthoglycogène.	—	Non.	Non.
8. <i>Lemanea annulata</i> Kützg.	\pm Glycogène.	Non.	Non.	Oui.
9. <i>Linum usitatissimum</i> L.	\pm Glycogène.	—	Oui.	Oui.
10. <i>Mahonia repens</i> G. Don.	\pm Glycogène-dextrine.	—	Oui.	Oui.
11. <i>Solanum tuberosum</i> L.	\pm Achrooglycogène.	Oui.	Oui.	Oui.

VI

RECHERCHE MICROCHIMIQUE DU GLYCOGÈNE.

Le glycogène peut souvent être caractérisé sous le microscope.

Difficultés.

Külz a beaucoup insisté sur les incertitudes de la recherche microchimique du glycogène¹; on ne saurait lui donner tout à fait tort. Cependant, lorsque le glycogène se trouve en grande quantité dans un tissu, j'estime qu'on peut le caractériser sous le microscope, au moins aussi bien que l'inuline ou l'asparagine : c'est ce qui arrive, par exemple, pour l'épithélium des Ascomycètes, pour le *Pilobolus*, pour beaucoup d'Infusoires, pour certains organes des Mammifères². Mais, s'il est peu abondant, on n'aura ainsi que des probabilités et non des certitudes. Il faut alors recourir à l'extraction en

¹ Külz, *Pflüger's Archiv*, XXIV, 1881, p. 63

² Sur la recherche microchimique du glycogène dans le règne animal, on peut consulter : Cl. Bernard, *Leçons sur les phénomènes de la vie*, I, p. 233; II, p. 91 et passim; — Ranvier, *Traité techn. d'histologie*, p. 158 et passim; — Certes, *Sur la glycogénèse chez les Infusoires*, *Comptes rendus*, 12 janvier 1880, p. 77; — Schiele, *Das Glycogen in normalen und pathologischen Epithelien*, *Inaug.-Diss.*, Bern, 1880; — Godet, *Recherches sur la struct. intime du placenta du Lapin*, *Diss. inaug.*, Berne, 1877; — Bock und Hoffmann, *Ueb. d. mikrochem. Verhalten d. Leberzellen*, *Virchow's Archiv*, Bd. 56, p. 201.

grand qui, elle-même, n'est pas exempte de difficultés. Ces difficultés, on l'a vu, sont plus sérieuses encore dans le règne végétal que dans le règne animal, à cause des autres hydrates de carbone — cellulose, amidon et leurs dérivés — si répandus chez les plantes. D'autre part, l'analyse en grand n'est guère praticable lorsqu'il s'agit d'organismes microscopiques; elle est trompeuse, pour beaucoup de plantes aquatiques qu'on ne parvient jamais à débarrasser complètement des Infusoires et des Rotifères qui les habitent. Dans des cas semblables, l'emploi de réactions microchimiques reste la seule ressource, de même qu'elles peuvent seules nous renseigner sur le mode de distribution du glycogène au sein des tissus.

Recours à l'analyse chimique.

Cas où l'analyse est inexécutable ou trompeuse.

Le glycogène se présente dans les cellules comme une matière amorphe, hyaline, réfringente, de consistance demi-fluide, imprégnant d'une manière diffuse tout le protoplasme (tissu de *Peziiza vesiculosa*; cellules du foie, d'après Bock et Hoffmann), ou accumulée irrégulièrement par places (*Pilobolus*), parfois en gouttelettes (épithéliums d'après Cl. Bernard, Schiele, etc.), en masses dont la coupe optique est semi-lunaire (placenta, d'après Godet; muqueuse vaginale, d'après Schiele) ou, enfin, en amas considérables qui peuvent, soit remplir toute une partie de la cellule (asques de *Peziiza*, etc.), soit constituer une sphère creuse autour du protoplasme (asques de *Tuber*). Jamais, pour autant qu'on sache jusqu'ici, il ne forme de grains solides, organisés, à la façon de l'amidon.

Aspect du glycogène dans les cellules.

Les amas glycogéniques, quoique très réfringents, le sont un peu moins que les gouttelettes grasses; et, comme le dit Schiele, ils s'en distinguent « par leurs contours moins foncés, leur reflet plus mat et leur consistance plus visqueuse¹ ». Extraits des tissus frais et

Réfringence.

Solubilité.

¹ Schiele, *loc. cit.*, p. 8.

mis au contact de l'eau, ils se dissolvent assez vite (en quelques minutes) et laissent souvent un peu de résidu granuleux : probablement un squelette albuminoïde. Au contraire, dans les tissus durcis à l'alcool, ou traités à l'acide acétique cristallisable, ils se coagulent ¹ et leur dissolution dans l'eau devient très difficile : c'est à cela, sans doute, qu'il faut attribuer l'extrême lenteur avec laquelle Schiele a vu se dissoudre le glycogène.

Caractères micro-
chimiques négatifs.

Les caractères microchimiques négatifs du glycogène sont l'insolubilité dans l'alcool et l'éther et l'absence de coloration avec l'acide osmique, le réactif de Millon et les sels de fer : ils permettent de distinguer cette substance des graisses, des albuminoïdes et des tannins. Son caractère positif le plus important nous est fourni par l'iode.

Action de l'iode sur
les substances
protéiques;

On attribue en général à des substances protéiques les colorations brunes que les cellules ² prennent souvent au contact d'une solution aqueuse *moyennement concentrée* d'iode dans l'iodure de potassium. Autant que j'en puis juger, c'est là une erreur : les matières protéiques deviennent jaunes par l'iode (jaune citrin, jaune soufre, jaune d'or, jaune d'ambre, orangé), mais non franchement brunes ³. Il est facile de s'en assurer sur une solution de blanc d'œuf et sur un très grand nombre de protoplasmes animaux et végétaux. — Les

sur la nucléine;

¹ Cf. Cl. Bernard, *loc. cit.*, II, p. 91.

² Ici et dans tout ce qui suit, je n'ai en vue que le *contenu cellulaire*; je laisse, à dessein, de côté les membranes, dont les colorations brunes par l'iode ne me paraissent pas devoir se rapporter au glycogène.

³ Hartig me semble avoir vu très juste quand il dit (*Entwicklungsgesch. des Pflanzenkeims*, 1858, p. 154) : « Die braune Farbe, welche Jodlösung dem [Protoplasma-] Schlauche ertheilt, gehört nicht diesem, sondern ihm adhärirende Substanzen an ». — Mais, plus tard, cela a été perdu de vue et on a généralement admis que les albuminoïdes peuvent se colorer en brun aussi bien qu'en jaune par l'iode.

noyaux se colorent en jaune d'or intense, parfois plus ou moins brunâtre; mais, ici encore, ce n'est pas un brun franc. Il en est de même de beaucoup de « grains protéiques » (*Ricinus*, *Linum*), ce qui est dû peut-être à de la nucléine, car Hoppe-Seyler a trouvé cette substance dans les cristalloïdes vitellins (« Dotterplättchen ») des animaux, si analogues aux cristalloïdes des grains protéiques des plantes.

Ces colorations jaunes ne diminuent point par une douce chaleur (blanc d'œuf, protoplasmés, cristalloïdes). Le contraire a lieu pour la couleur brune du glycogène traité par l'iode : elle pâlit beaucoup quand on chauffe la préparation. S'il y a de très faibles quantités de glycogène, la nuance paraît ne plus se foncer par le refroidissement (*Linum* ?); mais si le glycogène est quelque peu abondant, on voit clairement reparaitre la couleur primitive. Cette réaction s'obtient le mieux de la façon suivante : On emploie des tissus frais ou conservés dans l'alcool; ceux-ci sont souvent préférables, parce qu'ils sont débarrassés de la chlorophylle et de quelques autres matières colorantes. On place la coupe à examiner dans une goutte d'eau, sur le porte-objet, on ajoute un peu d'une solution médiocrement concentrée d'iode dans l'iodure de potassium¹, on laisse agir quelques instants

sur le glycogène.
Action de la chaleur.

Procédé pour la recherche microchimique du glycogène.

¹ Si le tissu était très alcalin — ce qui est rare chez les plantes — il faudrait aciduler la solution iodée, puisque les alcalis la décolorent. — Quelques auteurs conseillent de faire tous les essais sur les hydrates de carbone, avec des cristaux d'iode et non avec des dissolutions; mais je n'ai pas trouvé, dans le cas du glycogène, d'avantage bien marqué à ce mode de procéder. — Dans quelques cas où l'observation est très difficile, il pourra être utile de recourir à la marche assez compliquée que Cl. Bernard (*Phénomènes de la vie*, t. II, p. 91) recommande pour les tissus animaux : Déshydrater les coupes par l'alcool absolu additionné d'un fragment de potasse caustique ou de quelques gouttes d'acide; laver ensuite à l'éther, au chloroforme ou au sulfure de carbone pour durcir et enlever les matières grasses; puis baigner dans l'alcool iodé, ou le

Procédé de Cl. Bernard.

et on dilue le liquide iodé du porte-objet avec de l'eau. On constate à un faible grossissement si le contenu cellulaire s'est coloré en brun (brun, rouge-brun, brun acajou); dans l'affirmative, on chauffe doucement, sans jamais atteindre l'ébullition et on regarde si la couleur pâlit. Puis, on arrose le porte-objet par-dessous, au moyen d'une pissette, pour le refroidir vite et complètement et on observe au microscope si la couleur est redevenue plus foncée. Quand l'objet à étudier est assez grand, il est plus simple de comparer les nuances à l'œil nu, en posant la préparation sur un papier blanc : on évite ainsi la buée qui obscurcit le champ microscopique autour de l'objet chauffé.

Différence d'avec l'amylo-dextrine.

Je ne vois guère que l'amylo-dextrine avec laquelle une confusion soit encore possible, à la rigueur, après que la réaction que je viens de décrire a donné un résultat bien net. Mais l'amylo-dextrine (qui, du reste, ne paraît pas s'accumuler dans les plantes) ne forme point, comme le glycogène, des masses réfringentes, demi-fluides.

S'il est permis de tenir pour du glycogène une substance qui a tous les caractères optiques, physiques et chimiques que je viens de rapporter, il ne suffit pas, en revanche, que l'une ou l'autre des réactions ne se produise pas pour qu'on soit sûr qu'un tissu ne renferme pas de petites quantités de glycogène. Dans les tissus compacts, la couleur brune disparaît difficilement à chaud et réapparaît plus difficilement encore par le refroidissement.

Beaucoup de cellules végétales brunissent par l'iode.

C'est un fait extrêmement fréquent que de rencontrer des cellules végétales qui prennent par l'iode une coloration brune marquée. Comme je l'ai dit, cette réaction

chloroforme, ou le sulfure de carbone ou l'éther iodés; — laver dans l'essence de térébenthine et conserver la préparation dans du vernis à l'essence, sans clore complètement : « à l'abri de l'air elle se décolorerait rapidement ».

ne semble pas pouvoir se rapporter aux albuminoïdes, — ce qui ne veut pas dire qu'elle doit indiquer toujours un corps voisin du glycogène. Mais, à titre de renseignement pour des recherches ultérieures, il peut être utile de faire l'énumération rapide de quelques plantes dans lesquelles cette réaction a été constatée par d'autres ou par moi-même. Cet aperçu fait l'objet du prochain paragraphe; il n'est pas besoin de dire que je n'ai pas cherché à donner une liste même à peu près complète.

J'ajoute, une fois pour toutes, que dans mes observations j'ai fait usage d'une solution assez concentrée d'iode dans l'iodure de potassium. La teinture d'iode donne de moins bons résultats.

VII

RÉACTIONS DE L'IODE SUR QUELQUES PLANTES.

MYXOMYCÈTES. — Sur l'*Aethalium*, voir plus haut (p. 24).

MYXOMYCÈTES. — *Aethalium*.

CHAMPIGNONS. — Comme on l'a vu, beaucoup d'Ascomycètes, le *Pilobolus* et probablement d'autres Mucorinées contiennent du glycogène. La levure de bière nous présente tout au moins un corps très voisin. L'extrait aqueux d'*Agaricus campestris* L. renferme une sorte de dextrine; la présence du glycogène y est douteuse. — Ludwig et Busse¹ ont décrit, sous le nom de myco-

CHAMPIGNONS. — *Ascomycètes*. *Pilobolus* et autres *Mucorinées*.

Agaricus.

Elaphomyces. — Myco-dextrine et mycoïnuline.

¹ *Arch. f. Pharm.*, Bd. 189, p. 24.

dextrine et *mycoïnuline* deux hydrates de carbone dextrogyres, qu'ils ont extraits de l'*Elaphomyces granulatus* N. ab E., et qui restent encore à étudier de plus près. Les solutions de mycoïnuline seraient opalescentes à froid, mais non à chaud ; elles ne coloreraient pas l'iode.

Peronospora.

Peronospora Alsinearum Casp. — La membrane des fils conidiophores devient d'un rose brunâtre par l'iode. Le contenu des conidies prend une teinte qui varie du jaune au brun-rouge ; la substance qui se colore ainsi se dissout, par expression, dans l'eau du porte-objet. Sous l'action de l'iode, le contenu des oogones, d'abord finement granuleux, se colore d'une manière uniforme, en jaune rougeâtre pâle. Lorsqu'il s'est différencié en deux parties, le protoplasme central granuleux aussi bien que le *périplasma* ¹ réfringent deviennent d'un jaune-brun rougeâtre ; la substance colorable en brun existe à l'état d'imbibition ; elle est soluble dans l'eau. Sa nuance pâlit lorsqu'on chauffe, sans revenir d'une manière sensible par le refroidissement. C'est peut-être du glycogène ; mais il est facile de voir, par le réactif de Millon, que le protoplasme et le périplasma sont essentiellement formés de matières albuminoïdes ². J'ajouterai que le chlorure de zinc iodé colore la membrane des fils mycéliens en violet sale et la membrane de l'oogone en rouge-brun.

Périplasma.

Achlya.

Achlya racemosa Hild. — Les filaments à contenu abondant et dense, les oogones jeunes et surtout les zoospores prennent une belle coloration brun acajou par une solution d'iode dans l'iodure de potassium, pas trop diluée, — tout comme le font les Infusoires qui nagent parmi eux. La couleur brune de l'*Achlya* est répandue uniformément par tout le protoplasme et non pas liée à des granules spéciaux. Quand on écrase les filaments, on voit la substance colorée en brun se dissoudre bientôt dans l'eau et laisser un squelette de protoplasme jaune. Les filaments pauvres en contenu ne présentent que la réaction jaune du protoplasme. Il est donc possible que l'*Achlya* contienne du glycogène ; mais il y en a trop peu pour que l'action de la chaleur donne des résultats bien nets.

Les membranes cellulaires des filaments se colorent en rose pâle par l'iode.

Phycomyces.

Phycomyces nitens Knze. — Les spores, très réfringentes, deviennent jaunes par l'iode et légèrement brunes par l'acide

¹ de Bary, *Beitr. z. Morph. u. Phys. der Pilze*, 4^e Reihe, 1881, p. 16.

² Cf. de Bary, *Bot. Zeit.*, 1861, p. 90.

osmique. Leur contenu ne se dissout pas sensiblement dans l'eau. Elles paraissent donc renfermer de l'huile finement divisée, mais pas de glycogène. Il semble que, de même que beaucoup d'autres spores de Champignons (*Penicillium glaucum*, plusieurs Ascomycètes, etc.), elles doivent contenir, en mélange avec les albuminoïdes, une substance particulière qui leur donne leur aspect homogène et réfringent, qui n'est ni de l'huile ni du glycogène, et qui resterait à étudier.

Penicillium glaucum Lk. — Tout le mycélium se colore faiblement en brun rougeâtre par l'iode, surtout les articles basilaires des chapelets de conidies. Celles-ci, quoique très réfringentes, ne se colorent pas plus fort que le reste du Champignon et deviennent grisâtres par l'acide osmique (Cf. *Phycomyces nitens*).

Haplotrichum roseum Corda. — Les filaments fructifères et les spores deviennent bruns par l'iode et, plus tard, violets.

Hypochnus centrifugus Tul. — Tout le tissu des sclérotés se colore en brun pourpré par l'iode. (Cette observation et la précédente m'ont été communiquées par M. Fayod).

Penicillium.

Haplotrichum.

Hypochnus.

ALGUES VERTES ET BRUNES. — Hugo Mohl ¹ a vu parfois chez le *Zygnema* (et aussi chez la pomme de terre et d'autres Phanérogames) le suc de quelques cellules se colorer en rouge vineux par l'iode, mais Nägeli paraît tenté de voir là un phénomène morbide. — Nägeli a trouvé ² que les Chroococcacées, les Nostochacées (et Oscillariées), les Diatomées, la plupart des Fucacées, le *Chroolepus* ne renferment pas d'amidon. Il est fort possible qu'il y existe du glycogène : j'ai vu toutes les cellules d'une Oscillaire se colorer uniformément en brun acajou par l'iode. En revanche, le contenu de plusieurs Diatomées ne m'a offert qu'une réaction jaune, protoplasmique.

On sait que, d'après Walz ³, les *Vaucheria* (excepté *V. tuberosa* et *V. sericea*) sont privés d'amidon et sont riches en huile. Malgré les intéressantes expériences de Borodine ⁴, il est assez peu vraisemblable que cette huile soit le premier produit de l'assimilation chlorophyllienne : l'amidon, le glycogène et le sucre méritent donc d'être encore recherchés avec soin chez ces Algues.

Dans un *Cladophora* qui avait beaucoup d'amidon, je n'ai con-

ALGUES VERTES ET BRUNES. — Observations de Mohl et de Nägeli.

Oscillaria.

Diatomées.

Vaucheria.

Cladophora.

¹ Mohl, *Veget. Zelle*, p. 48 (cité par Nägeli, *Stärkekörner*, p. 381).

² Nägeli, *Die Stärkekörner*, 1858, pp. 378, 531 sqq.

³ Walz, *Beitr. z. Morphol. und Systematik d. Gattung Vaucheria*, in *Pringsheim's Jahrb.*, Bd. V, 1866-1867, p. 129.

⁴ Borodin, *Bot. Zeit.*, 1878.

Oedogonium. staté, au moyen de l'iode, de réaction brune bien accusée qu'à l'extrémité de la cellule terminale : le protoplasme y devient d'un jaune plus brunâtre qu'ailleurs. — Chez *Oedogonium* (décoloré par l'alcool) et *Spirogyra* (sp. aff. *Spir. orthospiræ*), je n'ai pas observé de réaction brune marquée. En revanche, j'ai souvent vu chez cette dernière espèce de petits granules, qui se colorent en rose par l'iode. Cette couleur, très pâle, ne se voit bien que lorsque les granules sont réunis en grand nombre. Ils sont animés d'un fourmillement très vif. Ils se trouvent dans la cavité cellulaire ou entre l'utricule primordial et la paroi de la cellule : ce dernier fait, assez remarquable, peut se constater avec certitude. Pendant la division de la cellule, ils s'accumulent près de la nouvelle cloison et servent à sa formation. Ils existent surtout dans les cellules vigoureuses, riches en amidon (« Amylonkerne ») et manquent lorsque la nutrition languit. Strasburger, qui a observé ces granules¹, les tient pour de l'amidon. Mais, dans les cas assez nombreux que j'ai eus sous les yeux, leur réaction rose pâle prouve qu'ils n'étaient point formés d'amidon ordinaire. Nous avons là sans doute quelque hydrate de carbone très voisin et, à certains égards, intermédiaire entre l'amidon et la cellulose, car la même réaction rose s'obtient avec les membranes de Spirogyre qui commencent à se décomposer et parfois aussi avec les membranes d'*Oedogonium*. Les membranes des Champignons la présentent souvent.

FLORIDÉES. — Observations de Nägeli.

FLORIDÉES. — Nägeli² n'a trouvé d'amidon, ni chez les *Bangia*, ni chez les *Porphyra*, ni chez les Batrachospermées, ni chez les Lémaanéacées ; il n'en a pas vu davantage, avec certitude, chez les Floridées proprement dites. En revanche, il y a observé chez beaucoup d'espèces (*Callithamnion*, *Nitophyllum*, *Polysiphonia*, *Cystoclonium* ; — *Furcellaria*, *Callophyllis*, *Rhytiphloea*, *Deleseria* ; etc.), par l'action de l'iode, des colorations d'abord rougeâtres, puis brunes, parfois violacées comme Kützing l'avait vu déjà ; parfois presque noires. Nous avons indiqué plus haut chez le *Lemanea* des phénomènes tout semblables ; et, de même que le *Lemanea*, on peut s'attendre à ce que la plupart des Floridées, sinon toutes, contiennent un hydrate de carbone que quelques-

¹ Strasburger, *Zellbildung u. Zelltheilung*, 3^{me} Aufl., 1880, p. 179. — Nägeli avait déjà vu ces granules accumulés le long des parois transverses de *Spirogyra* ; mais il ne parle pas de leurs réactions microchimiques (*Pflanzenphysiol. Unters.*, Heft I, 1855, pp. 44-45 et pl. III, fig. 6-12).

² *Loc. cit.*, pp. 532-533.

unes de ses propriétés rapprochent de l'amidon et d'autres du glycogène. Ce que Nägeli dit du *Nitophyllum ocellatum* Grev., par exemple, a tout l'air de se rapporter à un amas périphérique d'une sorte de glycogène, analogue à l'épiplasma des Ascomycètes : « les cellules végétatives, décolorées par l'alcool, deviennent d'abord rouge vineux, puis jaune-brun ou brunes par l'iode. La coloration ne tient pas à la membrane, ni au liquide cellulaire, mais bien à une substance homogène, qui revêt la membrane intérieurement et forme une couche plus ou moins épaisse, manquant par places ». Parmi les granules qu'on peut dégager des cellules du *Cystoclonium purpurascens* Kützg en les écrasant, il y en a, d'après Nägeli, qui restent incolores, d'autres qui deviennent jaunes, ou bruns ou violets par l'iode. Nägeli y soupçonne, sans motifs suffisants, des grains protoplasmiques mélangés d'amidon. (D'après les données de Kützing, il en serait de même des granules de plusieurs *Caulerpa*; mais Nägeli a contesté ces observations et la question devrait être examinée à nouveau¹.)

En 1865, Van Tieghem réétudia avec soin ces « globules amy-lacés », des Floridées et des Corallinées et reconnut² qu'ils « présentent tous les caractères de l'amidon dans leur forme, leur structure, leurs propriétés optiques [croix à la lumière polarisée], l'action qu'exercent sur eux l'eau chaude, les acides et les alcalis; mais ils diffèrent des grains amy-lacés tels qu'on les définit, par leur coloration en rouge par l'iode ». — L'iode, en effet, les colore, d'après lui, en *jaune rougeâtre* ou *acajou clair*; mais si on sou-met ces grains rougis à des dessiccations et à des humectations alternatives avec de la teinture d'iode et de l'eau, ou si l'on ajoute une goutte d'acide sulfurique ou d'acide chlorhydrique, ou même si l'on chauffe simplement vers 70°, ils s'altèrent et deviennent violets ou bleus. Aussi, Van Tieghem y voit-il « un principe très voisin de l'amidon ordinaire, mais qui ne lui paraît pas être iden-tique ». D'après Rosanoff³, « la matière amy-lacée des Floridées ne présente pas dans toutes les espèces la même intensité de réac-tion; ainsi, par exemple, dans le *Rhytiphloea pinastroides*, elle se colore, par l'eau iodée, en acajou; dans le *Bornetia*, la coloration est plus violâtre; enfin, dans le *Delesseria sanguinea*, dit Rosa-noff, j'ai vu des granules qui se coloraient immédiatement en

Van Tieghem.

Rosanoff.

¹ Kützing, *Grunds. d. philos. Bot.*, I, 193; — Nägeli, *Stärkehörner*, p. 193.

² Van Tieghem, *Note sur les globules amy-lacés des Floridées et des Coral-linées*, *Ann. sc. nat., Bot.* (5), t. IV, 1865, p. 317.

³ Rosanoff, *Notice sur le pigment rouge des Floridées*, *Ann. sc. nat., Bot.* (5), t. IV, 1865, p. 322.

bleu violâtre foncé ». — Après ces détails, il était évident que la matière amyliacée des Floridées n'est pas identique avec l'amidon typique; il n'est pas superflu de le rappeler, d'abord pour attirer de nouveau l'attention sur ce corps intéressant, et ensuite parce qu'on le confond encore souvent avec l'amidon ordinaire.

Nitophyllum.

Les quelques Floridées que j'ai étudiées au point de vue microchimique m'ont offert des réactions analogues à celles de *Lemanea*. C'est ainsi que tous les tissus de *Nitophyllum punctatum* Harv. (conservé dans l'eau salée) se colorent en brun intense par l'iode, surtout les 3-4 couches cellulaires les plus externes du thalle, de même que les tétraspores et les cellules qui les avoisinent. La coloration tient au contenu cellulaire, non aux membranes; on ne reconnaît pas de granules spéciaux. Le contenu passe au jaune lorsqu'on l'écrase dans l'eau. Il paraît en résulter que la substance brunie se dissout dans l'eau en laissant un squelette protoplasmique; au contraire, chez le *Lemanea* (conservé dans l'alcool), je n'avais pas réussi à constater ce fait. — Dans le *Ceramium ciliatum* (conservé dans l'alcool), les grands articles de la tige ont peu de protoplasme, qui se colore en jaune pâle; les petites cellules des nœuds renferment beaucoup de granules qui deviennent d'un brun acajou semblable à celui du glycogène de *Peziiza vesiculosa*.

Ceramium.

Polysiphonia.

— Le *Polysiphonia fastigiata* (*Rhytiphloea fast.*) contient aussi, dans les grandes cellules de sa tige, des grains blancs, réfringents, qui se colorent, par l'iode, du rouge-brun au violet sale; la matière colorée par l'iode ne se dissout pas sensiblement dans l'eau. Les membranes de ces grandes cellules deviennent rouge-brun par le réactif iodé, comme celles de l'albumen d'*Iris* ou d'*Allium*. Au contraire dans les extrémités végétatives jeunes de *Polysiphonia*, les membranes ne se colorent pas et il n'y a pas de granules réfringents.

Je n'ai pas eu à ma disposition de Floridées vivantes pour m'assurer que les granules amyliacés y existent déjà; en effet, il n'est pas impossible, à priori, que ces granules se forment seulement après la mort et surtout dans l'alcool, comme les sphéro-cristaux d'inuline ou les granules de « monotropine ». On sait que Nägeli croit avoir trouvé l'inuline chez une Siphonée (*Acetabularia mediterranea*)¹, qui renferme d'ailleurs des grains de chlorophylle et de l'amidon.

¹ Nägeli und Schwendener, *Das Mikroskop*, 2^e Aufl., 1877, p. 511; — Nägeli, *Sitzungsb. d. k. bayr. Akad. d. Wiss., München*, 1862, Bd. I, p. 314; — Sachs, *Bot. Zeit.*, 1864, p. 77.

MOUSSES. *Fontinalis antipyretica* L. — Tout le tissu, près du point végétatif, se colore en brun par l'iode, y compris la plupart des jeunes grains de chlorophylle.

PHANÉROGAMES. *Graines*. — Dans son traité classique, Nägeli a établi que la grande majorité des spores et des graines ne renferme pas d'amidon. Il fait ressortir que c'est alors l'huile ou les parois cellulaires épaissies qui constituent la réserve non azotée; parfois aussi il y a une substance mucilagineuse (Malvacées) ¹. Il est probable que d'autres corps peuvent encore jouer, dans certains cas, un rôle analogue : tels sont les glycosides ², les sucres, les corps voisins du glycogène.

PHANÉROGAMES. — *Graines*. — Observations de Nägeli.

Les parois cellulaires épaissies sont très fréquentes dans les graines privées d'amidon. On sait que, d'après Sachs, elles remplissent, dans la datte, le rôle de matériaux de réserve. Ne devrait-on pas leur attribuer aussi cette signification dans la plupart des autres cas et leur accorder, à ce point de vue, plus d'importance qu'on ne le fait généralement? — Elles prennent d'ordinaire une couleur brunâtre ou violacée par l'iode (comme le font les parois de beaucoup de fibres végétales ³) : Nägeli l'a signalé pour beaucoup de Xérotidées, Liliacées, Smilacées, Iridées, Amaryllidées, Hydrophyllées, Primulacées, Papilionacées ⁴. Mais cette réaction n'est pas générale; il est facile de s'en assurer sur certaines graines de Papilionacées (*Cassia*) dont les parois cellulaires épaissies deviennent jaunes par l'iode; Nägeli avait vu la même chose chez le *Tamus* et plusieurs Myrtacées.

Parois cellulaires épaissies.

Je n'ai pas trouvé jusqu'ici de graine où l'existence du glycogène pût se démontrer avec certitude par voie microchimique. Plusieurs contiennent cependant des substances qui se colorent en brun par l'iode et qui peuvent appartenir au groupe du glycogène; mais les réactions n'ont pas la netteté qui permet les déterminations sûres. J'en donnerai un exemple; il fait connaître en même temps la manière dont les parois épaissies de l'albumen se conduisent vis-à-vis des alcalis et des acides.

Matières brunissant par l'iode.

La graine mûre d'*Allium Cepa* L. contient de l'huile et pas d'amidon. Les cellules de l'embryon ont des parois minces; après ébullition avec la potasse, elles gonflent et bleuissent par l'iode.

Allium.

¹ Nägeli, *Die Stärkekörner*, 1858, pp. 397, 565.

² Sur les tannins, voy. Wigand, *Bot. Zeit.*, 1862, p. 121, sqq.; — Sachs, *ibid.*, p. 246.

³ de Bary, *Vergl. Anat.*, 1877, pp. 140, 497.

⁴ Nägeli, *loc. cit.*, p. 543 sqq.

Leur protoplasme, riche en huile, prend par l'iode une couleur brun acajou, analogue à celle du glycogène; la matière colorable paraît se dissoudre dans l'eau quand on écrase l'embryon sur le porte-objet et il reste un protoplasme teint en jaune d'or. Au contraire, les membranes cellulaires de l'albumen sont très épaisses, cornées, brillantes, fortement réfringentes; elles deviennent rouge-brun par l'iode. Le contenu devient jaune orangé. Une ébullition de quelques minutes dans l'eau ou la potasse caustique diluée n'enlève pas à ces membranes la faculté de se colorer en rouge-brun; mais, après ébullition avec l'acide chlorhydrique étendu, elles perdent de leur réfringence et deviennent jaune pâle par l'iode. La potasse fait très bien apparaître leurs ponctuations et dissout presque tout le contenu cellulaire.

Iris.

Les graines d'*Iris Pseudo-Acorus* L., présentent un albumen corné très analogue, dont les membranes cellulaires deviennent successivement jaunâtres, rosées, violettes et enfin d'un beau rouge-brun par l'iode. L'écrasement sur le porte-objet ne leur enlève rien de la substance qui se colore ainsi.

Faba,

Parmi les graines amylicées, je mentionnerai celles de *Faba vulgaris* Mönch. Elles ont beaucoup d'amidon dans les cotylédons et n'en ont pas dans la plumule; dans les deux régions, le protoplasme se colore en jaune par l'iode. Mais, de part et d'autre, on observe dans les cellules épidermiques un protoplasme plus dense, qui prend avec l'iode une coloration en brun rougeâtre: pour les cotylédons, c'est surtout à l'épiderme de la face supérieure; dans la plumule, la réaction s'étend aux 2-3 assises sous-épidermiques.

Autres espèces,

D'autres graines (*Acacia Sophoræ*, *Cassia* sp., *Euphorbia Myrsinites*, *Cucurbita Pepo*, *Ricinus communis*, etc.), ne m'ont offert, sous l'action de l'iode, aucune coloration brune marquée.

Méristèmes et tissus jeunes.

Méristèmes et tissus jeunes. — Par l'emploi de l'iode, une réaction brune plus ou moins nette s'observe fréquemment dans le protoplasme des jeunes plantules et des jeunes bourgeons, surtout au voisinage du point végétatif. Tel est le cas pour les plantules de *Linum usitatissimum* (p. 37), *Faba vulgaris* (jeunes plantes de 5 à 20 centimètres: la réaction brune ou brun rougeâtre est surtout marquée près de la coiffe radulaire, dans le liber des jeunes faisceaux, à la pointe de la tigelle, dans les poils unicellulaires, dans l'épiderme; cette réaction s'observe aussi bien dans les jeunes plantes vertes que dans les étiolées); les bourgeons de *Mahonia repens* (p. 38), *Stellaria media*, *Hedera Helix*, *Syringa vulgaris*, *Sambucus*, *Verbascum*, *Orobanche Rapum* (près des

faisceaux fibro-vasculaires), *Iris germanica* (bourgeons et jeunes feuilles), *Pinus*, *Abies excelsa*, *Taxus baccata*, etc.

Dans les tissus adultes, c'est d'ordinaire l'épiderme qui conserve le plus longtemps et le mieux marquée la réaction brune par l'iode.

Épiderme.

Il me reste encore à mentionner le *Monotropa Hypopitys*. On sait que, d'après Schacht et Drude, ce parasite est toujours privé d'amidon. « Le *Monotropa*, dit Drude ¹, n'en possède pas moins une matière de réserve; seulement elle est à l'état de dissolution dans la plante vivante. Si l'on conserve des plantes jeunes ou vieilles pendant 2-3 jours, dans l'alcool à 90 %, on trouve un corps très analogue à l'amidon, déposé dans toutes les régions où l'amidon s'accumule chez le *Neottia*; mais ce corps est en moindre quantité. Il a presque le reflet de l'amidon, mais une teinte un peu verdâtre; par l'addition d'iode, il se colore en brun et, peu à peu, en noir brunâtre ², tandis que les noyaux et le protoplasme restent d'un jaune pur. Comme il ne devient pas rouge brique par le nitrate de mercure, on ne peut le regarder comme de l'aleurone et je ne connais absolument aucune substance analogue; il est probable qu'il est caractéristique pour *Monotropa*. » Aussi Drude propose-t-il de le nommer *monotropine*. Il ajoute ³ que l'on ne trouve quelques grains de monotropine dans la plante encore vivante, que lorsque la nutrition est très abondante.

Monotropa.

D'après ce qui précède, il est facile de voir que la monotropine a quelque ressemblance avec l'inuline; comme elle, elle est dissoute en grande quantité dans la cellule vivante; comme elle, elle se précipite en granules par l'alcool. Mes observations sur des exemplaires de *Monotropa* conservés dans l'alcool qu'a bien voulu m'envoyer M. le professeur Reess, d'Erlangen, me permettent d'ajouter encore quelques traits à cette analogie: les granules de monotropine ne se dissolvent pas dans l'eau froide; l'eau chaude les dissout facilement et ils ne se reprécipitent pas par le refroidissement. La potasse les gonfle un peu, l'addition d'acide chlorhydrique les contracte de nouveau; après ce traitement, ils ont conservé la propriété de se colorer en brun par l'iode. L'acide chlorhydrique concentré rend leurs contours très pâles sans les

« Monotropine » de Drude. Sa ressemblance avec l'inuline.

¹ Drude, *Die Biologie von Monotropa und Neottia*, Göttingen, 1873, p. 48.

² Quoique le texte de Drude ne soit pas absolument clair sur ce point, je suppose que la propriété de se colorer par l'iode n'appartient qu'aux granules produits par l'alcool et non pas à la solution qui existe dans la plante vivante. Malheureusement je n'ai pas eu d'exemplaires frais à ma disposition pour vérifier ce fait.

³ Drude, *loc. cit.*, p. 49.

gonfler sensiblement. Des granules de 3-5 μ de diamètre ne rétablissent pas la lumière entre nicols croisés; il en est de même pour les petits grains d'inuline ¹. — Ces réactions prouvent que les granules de monotropine sont très analogues aux granules d'inuline : ils s'en distinguent par le brunissement intense sous l'influence de l'iode et le gonflement par les alcalis. L'inuline, comme on sait, ne se colore point par l'iode autrement ou plus fort que le liquide ambiant et ses sphéro-cristaux ne gonflent pas par les alcalis. (Cependant j'ai constaté que les grains d'inuline amorphe, extraite des tissus, se gonflent en se dissolvant dans la potasse.)

Granules non colorables. Çà et là, je trouve dans les cellules de *Monotropa* des granules semblables de taille et d'aspect aux grains de monotropine, mais qui ne se colorent point par l'iode ².

Tubes cribreux. *Tubes cribreux.* — Le contenu des tubes cribreux de *Cucurbita Pepo* et surtout le calus de leurs plaques cribreuses se colorent en brun acajou par l'iode. Quand on écrase fortement la masse sur le porte-objet, elle passe au jaune brunâtre comme si la substance colorée en acajou se dissolvait plus ou moins dans le liquide. On sait aussi d'après Russow ³ que le calus d'*Abies excelsa* et de *Larix sibirica* est partiellement soluble dans l'eau et dans la glycérine.

Latex. *Latex.* — Des recherches ultérieures auront à nous apprendre si le latex de diverses plantes ne contient pas des corps voisins du glycogène qui y rempliraient le même rôle que les bâtonnets d'amidon du latex des Euphorbiacées ou le sucre de celui du Mûrier. Faivre ⁴ a trouvé, par exemple, « de l'hydrate de carbone » dans les laticifères du *Tragopogon porrifolius*, mais sans préciser sa nature. Dans ses recherches microchimiques sur le latex, A. Vogl n'indique généralement qu'une coloration en jaune d'or par l'iode ⁵, ce qui ne révélerait que des albuminoïdes; mais chez

¹ Dragendorff, *Materialien zu einer Monogr. des Inulins*, St-Petersburg, 1870, p. 70.

Chelidonium. ² Nägeli, *Stärkehörner*, 1858, pp. 192-193, 407) a signalé chez le *Chelidonium majus* des « grains d'amidon » qui se colorent en rouge-brun par l'iode et passent au violet en se desséchant. Il a vu des granules analogues dans une pomme verte; il est remarquable qu'il ne fasse pas ressortir cette analogie. — On ne sait pas au juste quelle substance forme ces granules, pas plus qu'on ne le sait pour les granules des Floridées; Van Tieghem (*Traité de Botanique*, pp. 513, 517) suppose toutes ces substances identiques avec celle qui constitue le squelette des grains d'amidon traités par la salive ou l'acide sulfurique étendu (*cellulose amyloïde, amylose*). On voit combien d'obscurité règne encore sur les divers hydrates de carbone des végétaux, malgré tant d'excellents travaux qui s'en occupent.

³ Russow, *Bot. Zeit.*, 1881, p. 724.

⁴ Faivre, *Comptes rendus*, t. LXXXVIII, 1879, p. 272.

⁵ A. Vogl, *Pringsheim's Jahrb.*, V, 1866, pp. 36, 40, 42, 64.

Asclepias curassavica ¹ il signale une coloration en « jaune d'or ou jaune-brun ». A tous égards, l'étude chimique du latex mériterait d'être reprise.

VIII

ÉVOLUTION ET RÔLE PHYSIOLOGIQUE DU GLYCOGÈNE CHEZ LES PLANTES.

Plusieurs problèmes sont à résoudre au sujet de l'évolution et du rôle du glycogène chez les plantes. Sans doute, il y a lieu d'admettre que dans les tissus végétaux aussi bien que dans les tissus animaux, partout où le glycogène s'emmagasine, il représente une réserve hydrocarbonée et, cela, avec une double fonction, respiratoire et histogénétique ; ou, si l'on veut, il sert à la fois comme matériel de combustion et comme matériel de construction. Si l'on se borne à ne l'envisager que chez les Ascomycètes, il semble même déjà permis de déduire quelques conclusions plus précises et d'énoncer quelques hypothèses plausibles. Glycogène des Ascomycètes.

La source du glycogène des Champignons ne saurait . Sa source.

¹ Id., *ibid.*, p. 49.

se chercher que dans leurs aliments organiques; on ne peut songer, en effet, en l'absence de chlorophylle, à une synthèse directe. A en juger par les données de la physiologie animale, le glycogène peut d'ailleurs être formé par l'organisme aussi bien aux dépens des hydrates de carbone que des albuminoïdes; en revanche, les graisses ne sont pas aptes à en fournir, ainsi que Claude Bernard l'avait reconnu dès l'origine de ses travaux ¹.

Son évolution.

On sait que chez les animaux le glycogène, diffus dans la plupart des tissus embryonnaires, se localise à l'âge adulte surtout dans le foie. D'après mes observations, les Ascomycètes nous offriraient des phénomènes analogues. Là aussi (*Ascobolus furfuraceus*, *Peziiza vesiculosa*), le glycogène est d'abord répandu dans tout le tissu, pour se concentrer ensuite principalement dans les asques, vers l'époque de la formation des spores. Les paraphyses n'en renferment jamais en proportion appréciable. « Ce qui est curieux, dit Cl. Bernard ², c'est que le foie, qui chez l'adulte sera le lieu d'élection de la formation glycogénique, ne contient encore aucune trace de cette substance [chez le fœtus]. » De même, les asques ne renferment d'abord pas ou presque pas de glycogène; puis, peu à peu, ce corps s'y accumule en très grande quantité et bientôt il se sépare du reste du contenu de l'asque et s'y localise dans l'épiplasme.

Mais ici se présente une différence facile à prévoir entre l'accumulation glycogénique du foie et celle des asques. Le foie renouvelle normalement sa provision de glycogène en proportion de ce que l'organisme en consomme. Les asques, au contraire, ne sont que des organes de reproduction, des générateurs de spores : aussi le glycogène y disparaît-il au fur et à mesure que

¹ Cl. Bernard, *Union médicale*, 1859, I, p. 556.

² Cl. Bernard, *Phénom. de la vie*, etc., t. I, p. 238.

les spores se développent. S'il fallait absolument trouver un fait plus ou moins parallèle dans le règne animal, on pourrait rappeler que le glycogène s'amasse chez les Crustacés au moment de la mue et qu'il disparaît après que l'animal s'est entouré de la nouvelle carapace.

Une portion, assez notable peut-être, du glycogène de l'épithélium pourra servir de combustible à la plante et se détruire par son activité respiratoire. Mais, ce qui paraît certain, c'est qu'une partie doit être utilisée pour le développement des spores : de Bary l'a déjà supposé¹. Il est aisé de s'en convaincre, tout au moins chez les Truffes, dont les spores grandissent beaucoup en mûrissant tandis que le tissu filamenteux, en dehors des asques, est très pauvre en contenu et ne saurait puiser d'aliments dans le sol avec lequel il n'est plus en connexion : il est donc évident que les spores des Truffes se développent d'une manière à peu près exclusive aux dépens du contenu de l'asque.

Son rôle. Il est utilisé pour les spores.

Un autre fait conduit à la même conclusion : le *Tuber melanosporum* forme en général quatre spores dans chaque asque, dont une ou plusieurs peuvent subir des arrêts d'évolution et avorter. Or, l'asque, qui ne contient presque jamais trace d'épithélium à la maturité quand les quatre spores y atteignent leur complet développement, en renferme souvent un peu quand trois spores seules se développent et davantage s'il n'y en a que deux ou une. Mais — détail significatif — si la spore unique ou les deux spores sont beaucoup plus grosses que d'habitude, il n'y a plus que peu ou point d'épithélium qui ait persisté dans l'asque mûr.

Pour quelle partie de la spore le glycogène fournit-il plus spécialement les matériaux? de Bary était porté à admettre que c'est surtout « pour la membrane ou pour

¹ de Bary, *Ueb. die Fruchtentwicklung der Ascomyceten*, 1863, p. 23.

le revêtement gélatineux que celle-ci présente souvent (par exemple : *Peziça convexula*, *P. melæna*) ». Il conclut toutefois par ces mots, qui laissent la question indécise : « Mais nous n'avons jusqu'ici aucune preuve certaine que cela ait lieu ; d'après les observations que nous possédons, il est tout aussi possible que l'épiplasme ne contribue directement en rien au développement des spores ¹ ».

Dans les *Tuber*, il sert probablement à former de l'huile. J'ai dit tantôt les raisons pour lesquelles il ne me semble pas douteux que l'épiplasme procure en réalité des matériaux aux spores, et j'ajouterai qu'il me paraît probable, tout au moins chez les Truffes, qu'il contribue à produire leur contenu huileux, beaucoup plus que leur membrane.

Genèse des spores. Il serait trop long d'exposer ici la genèse des spores de *Tuber*, qui diffère passablement de ce qu'on a coutume d'admettre. Mais il est nécessaire de dire qu'elles se forment d'une manière simultanée, aux dépens d'une partie seulement du protoplasme de l'asque et qu'au moment de leur naissance elles s'entourent d'une membrane mince et lisse (endospore). Le reste du protoplasme de l'asque se condense ensuite autour d'elles et se différencie pour constituer les épaisissements, les pointes ou le réticulum de l'exospore : exemple intéressant d'une membrane formée en partie suivant le type classique et en partie par apposition du dehors, par métamorphose d'une masse protoplasmique, ainsi que de Bary l'a si bien décrit pour le *Peronospora*.

La quantité d'épiplasme ne diminue pas d'une manière sensible jusqu'au moment où les jeunes spores ont acquis leur exospore. Mais, après ce moment, elle décroît progressivement et en même temps une matière huileuse s'accumule dans les spores.

¹ de Bary, *loc. cit.*

L'acide osmique permet de suivre les étapes de cette accumulation d'huile. On voit apparaître, dans le protoplasme des spores, de très petites gouttelettes de $0^{\mu},5$ de diamètre qui déjà brunissent nettement par l'acide osmique; ces gouttelettes, d'abord isolées, se réunissent bientôt par groupes. Lorsque la spore a à peu près atteint sa grandeur définitive, les gouttes d'huile ont un diamètre de $3-5^{\mu}$ et elles forment, à une douzaine ou davantage, un amas unique à l'intérieur de la spore. La membrane de la spore se charge alors peu à peu de pigment foncé, tandis que les gouttes deviennent de plus en plus grandes, remplissent toute la spore, s'aplatissent par pression réciproque et finissent par se fusionner en un petit nombre de grosses gouttes; à la complète maturité, celles-ci se réunissent elles-mêmes en une seule goutte qui occupe à peu près toute la spore. Il existe toujours un protoplasme fondamental granuleux entre les gouttes d'huile; on le reconnaît surtout par l'emploi d'une solution de carbonate de soude.

Leur huile.

Cette huile est un mélange de diverses substances difficiles à déterminer par voie microchimique; elle paraît renfermer, entre autres, une certaine proportion de cholestérine. Je crois, comme je l'ai dit, pouvoir établir un lien génétique entre ces matières huileuses et l'épiplasme; car

- 1° d'où viendrait l'huile, si ce n'est de l'épiplasme?
- 2° où irait l'épiplasme (qu'on voit disparaître comme tel), s'il ne donnait naissance à l'huile?

Les considérations qui précèdent ne se rapportent qu'aux *Tuber*, mais elles paraissent encore applicables à d'autres Ascomycètes. C'est ainsi qu'on trouve une assez grande quantité d'huile dans les spores de *Peziza Acetabulum*, *Helvella elastica*¹; et nous savons que

Rôle du glycogène
chez d'autres As-
comycètes;

¹ de Bary, *Morphol. u. Physiol. der Pilze*, etc., 1866, p. 132.

ces espèces contiennent de l'épiplasme. D'autres (*Pez. vesiculosa*, *Pez. sclerotiorum*, *Helvella esculenta*) n'ont que deux petites gouttes huileuses aux deux foyers de leurs spores elliptiques¹ ; dans ce cas, il semble que l'huile soit bien peu abondante pour que sa formation ait pu consommer tout le glycogène disponible dans l'épiplasme, d'autant plus que *P. vesiculosa* en renferme précisément beaucoup. Mais il serait prématuré d'émettre des hypothèses sur les substances auxquelles le glycogène pourrait encore donner naissance chez ces Champignons : peut-être en emploient-ils beaucoup pour leur respiration.

Une observation très intéressante de de Bary doit enfin être rappelée : elle semble parler en faveur de la genèse de l'huile des spores aux dépens du glycogène, telle que je cherche à la rendre probable. de Bary, en traitant par l'iode des spores de *Peziiza tuberosa* et de *P. hemisphaerica*, a vu apparaître « des corps arrondis ou irréguliers, invisibles auparavant, qui prenaient la couleur brun-rouge de l'épiplasme, tandis que le reste du contenu devenait jaune² » ; ces corps se trouvent aux deux foyers de l'ellipse, c'est-à-dire aux endroits mêmes où des espèces voisines ont des gouttelettes huileuses.

chez d'autres
plantes.

Il n'y a jusqu'ici rien de spécial à dire sur le rôle des principes plus ou moins voisins du glycogène que j'ai trouvés dans la levure, dans le *Lemanea* et dans trois Phanérogames et qui certainement existent encore ailleurs.

Mode de transformation du glycogène en huile. Le mécanisme de la formation des graisses aux dépens du glycogène³ est très probablement le même ou à

¹ *P. sclerotiorum* a souvent une seule goutte, centrale ou excentrique.

² de Bary, *ibid.*, pp. 132-133.

³ En physiologie animale, l'hypothèse de la formation de

peu près qu'aux dépens de l'amidon; et quoique les détails du processus soient inconnus dans les deux cas, sa réalité est à peine douteuse. La seule chose incontestable, c'est que c'est, en somme, un phénomène de réduction et, comme il se fait indépendamment de la chlorophylle, l'oxygène en excès ne saurait devenir libre : il doit se porter sur une partie de la molécule hydrocarbonée et la détruire en produisant de l'acide carbonique et de l'eau par respiration intramoléculaire, Production de CO². pour fournir aux autres groupes d'atomes l'énergie nécessaire à la genèse des graisses. Le rôle respiratoire des hydrates de carbone et leur rôle plastique apparaissent ici comme corrélatifs l'un de l'autre. A l'appui de cette manière de voir, on peut rappeler que, tout récemment encore, Godlewski ¹ a signalé, pour des fruits dans lesquels des corps gras se formaient en même temps que de l'amidon disparaissait, une production d'acide carbonique plus grande que celle qui répondait à l'oxygène absorbé : cet excès ne peut provenir que d'une respiration intramoléculaire.

Si l'on cherche à mettre en équation la production des graisses en partant des hydrates de carbone, on remarque qu'il tendrait à se dégager de l'hydrogène, l'oxygène qui se trouve en excès n'étant pas assez abondant pour brûler tout le résidu de carbone et d'hydrogène qu'il a à

Intervention de l'oxygène.

graisse au moyen du glycogène a été soutenue par divers auteurs, notamment par Pavy (Cf. Hoppe-Seyler, *Physiol. Chemie*, IV, 1881, p. 1002 sqq.). On sait qu'en physiologie végétale l'hypothèse de Mohl et Sachs, de la transformation de l'amidon en graisse a été généralement adoptée. Les expériences récentes de Nägeli et Loew (*Ueb. die Fettbildung bei den niederen Pilzen, Sitzungsb. k. bayr. Akad.*, 1879, I, p. 287) ont aussi établi que les Champignons inférieurs peuvent former de la graisse, soit qu'on les nourrisse avec des peptones, soit qu'on mette à leur disposition des hydrates de carbone.

¹ Travail en polonais, analysé dans le *Biol. Centralbl.*, 1^{er} avril 1882, p. 69.

IX

GLYCOGÈNES ET AMYLODEXTRINES.

Sans empiéter sur le domaine de la chimie pure, je voudrais examiner rapidement ici au point de vue de la physiologie végétale, quelques questions chimiques que soulève la recherche du glycogène chez les plantes.

Et d'abord, y a-t-il un ou plusieurs glycogènes? Les avis sont très partagés, mais il me semble bien ressortir du travail soigneux de Boehm et Hoffmann¹ qu'il existe plusieurs corps qui ne sont pas identiques avec le glycogène du foie des mammifères et qui en sont pourtant assez voisins pour être réunis avec lui sous une dénomination commune : le groupe du glycogène. La même opinion se dégage pour moi des recherches que j'ai faites chez les végétaux. Boehm et Hoffmann ont étudié cinq corps de ce groupe : le glycogène du foie, le glycogène

Les glycogènes.

¹ Boehm und Hoffmann, *Beitr. z. Kenntniss des Glykogens und seiner Derivate*, *Arch. f. exper. Pathol.*, X, 1879, p. 12. — Claude Bernard, Kühne, Naunyn, v. Vintschgau et Dietl, v. Merz, Külz, Landwehr, etc., se sont aussi occupés de cette question.

des muscles, le xanthoglycogène, l'achrooglycogène et la glycogène-dextrine. L'achroodextrine de Brücke dont ils parlent aussi n'appartient plus à ce groupe.

Leurs propriétés communes.

Ces glycogènes sont tous des hydrates de carbone $C^6 H^{10} O^5$, Aq. On peut citer comme leurs propriétés caractéristiques que leurs solutions aqueuses sont opalescentes, fortement dextrogyres ($+ 211^\circ$ ou même davantage), facilement précipitées par l'alcool (environ 2 volumes d'alcool suffisent) et sans la moindre action réductrice sur les réactifs de Fehling et de Trommer. Ils diffèrent entre eux par le degré de leur opalescence et de leur coloration par l'iode, comme Boehm et Hoffmann l'ont établi.

Glycogène de *Peziiza* et *Tuber*.

Pour ce qui est des plantes, le glycogène de *Peziiza vesiculosa* est, par toutes ses propriétés connues, absolument identique avec le glycogène du foie. Celui de *Tuber*, traité par l'iode, présente sous le microscope une nuance plus rouge, moins brune, que celui de *Peziiza* et d'*Ascobolus* : cette différence légère, mais incontestable et constante, peut être due au glycogène lui-même ou à l'effet de quelque substance qui l'accompagne, car on sait combien les réactions iodées tiennent à peu de chose. Dans la première alternative, ce glycogène nous rappellerait celui des muscles. — Les nuances que l'iode provoque chez d'autres Ascomycètes ont été indiquées aux deux premiers paragraphes de ce travail, d'après les observations de de Bary et les miennes. Je n'ai pas à y revenir.

Quant aux substances que j'ai extraites du *Lemanea* et de quelques Phanérogames, elles se rapprochent certes des glycogènes, mais, en présence des difficultés de l'analyse, il vaut peut-être mieux ne pas décider encore si l'on doit ou non les rattacher définitivement à ce groupe.

Substance de *Lemanea*.

La substance du *Lemanea* (et probablement d'autres Floridées) offre un intérêt spécial en ce qu'elle a quelque

chose d'intermédiaire entre le glycogène et l'amidon. Elle forme (du moins dans la plante conservée dans l'alcool) des grains insolubles à froid, comme l'amidon; mais ces grains brunissent au lieu de bleuir par l'iode. Beaucoup d'iode les rend presque noirs, ce qui indique qu'ils ont une grande affinité pour ce réactif. On se souviendra aussi, qu'en présence d'une très petite quantité d'iode, j'ai vu la substance extraite par une lessive étendue et tiède de soude caustique se colorer en violet rougeâtre : tous ces caractères pourraient faire penser à un mélange de très peu d'amidon avec quelque amylo-dextrine. Mais, d'un autre côté, la légère opalescence et l'absence de tout pouvoir réducteur rappellent le groupe du glycogène. Van Tieghem a admis récemment ¹, mais sans preuves suffisantes à ce qu'il semble, que cette substance est la même que celle qui forme le squelette des grains d'amidon ordinaires. En somme, l'amidon des Floridées diffère un peu de celui des autres plantes, de même que leur chlorophylle n'est pas absolument identique, d'après Pringsheim et Nebelung ², avec celle des végétaux supérieurs.

Les dextrines et les amylo-dextrines obtenues par W. Nägeli par l'action des acides étendus sur l'amidon sont des corps qui se rapprochent beaucoup du groupe du glycogène. L'« amidon soluble » de Musculus est aussi une amylo-dextrine ³.

J'ai préparé plusieurs amylo-dextrines au moyen de l'amidon de pomme de terre; l'une d'elles, remarquable par l'opalescence de ses solutions et par la facilité avec

¹ Cf. supra p. 56, note 2.

² *Locc. citt.* supra, p. 34, note 3.

³ W. Nägeli *Beitr. z. näheren Kenntniss der Stärkegruppe*, Leipzig, 1874; — Musculus, *Comptes rendus*, t. LXX, 1870, p. 857; t. LXXVIII, 1874, p. 1413; t. LXXXVIII, 1879, p. 612; *Bot. Zeit.*, 30 mai 1879.

Amylodextrine opalescente, insoluble dans l'alcool fort. laquelle l'alcool la précipite, mérite d'être mentionnée. J'ai laissé de l'amidon en contact, à froid, pendant seize heures avec six fois son poids d'acide sulfurique au dixième, puis j'ai chauffé presque à l'ébullition pendant huit minutes. J'ai filtré et additionné la liqueur de deux fois son volume d'alcool absolu : il s'y forme un très léger précipité, qu'on recueille et qu'on lave avec un mélange de 2 volumes d'alcool et 1 volume d'eau. Le précipité a les propriétés que voici : il fournit des solutions faiblement, mais nettement, opalescentes¹; l'opalescence disparaît par la soude caustique; il colore l'iode en brun; il est soluble dans un mélange de volumes égaux d'eau et d'alcool absolu, insoluble dans un mélange d'un volume d'eau pour deux volumes d'alcool. Ces caractères le font ressembler au glycogène. Mais il s'en distingue absolument parce qu'il réduit le réactif de Trommer et que l'alcool le précipite en petits granules qui se transforment après quelques heures, en fines aiguilles cristallines enchevêtrées, semblables à celles des amyloextrines que W. Nägeli a représentées à la fig. 9 de sa planche.

Saccharification de l'amidon et du glycogène. Les acides étendus et les ferments agissent d'une façon très analogue sur le glycogène et sur l'amidon. Il semble pourtant que les produits dérivés du glycogène n'aient pas autant de tendance que ceux de l'amidon à réduire les liqueurs cupro-alkalines, car l'existence d'une glycogène-dextrine non réductrice est certaine, tandis que l'existence d'une amyloextrine ou d'une dextrine dérivée de l'amidon, ne réduisant pas les réactifs cuivrés, est toujours discutée : admise par Brücke, Bondonneau et O'Sullivan, elle est contestée par W. Nägeli, Musculus, v. Mering, Barfoed, etc.

¹ W. Nägeli, *Stärkegruppe*, 1874, p. 29, dit que les solutions concentrées de ses amyloextrines sont « fluorescentes »; c'est là évidemment une erreur : il veut sans doute dire « opalescentes ».

Les étapes *principales* de la saccharification, telles qu'elles paraissent résulter de l'ensemble des travaux sur la matière ¹, pourraient se résumer de la façon suivante qui fait ressortir le parallélisme entre le glycogène et l'amidon :

SACCHARIFICATION

DU GLYCOGÈNE.	DE L'AMIDON.
1. Glycogène.	1. Amidon.
2. Glycogène-dextrine.	2. Amylodextrine.
3. Achroodextrine.	3. Achroodextrine.
4. Maltose.	4. Maltose.
5. Dextrose.	5. Dextrose.

On sait que le mécanisme de cette saccharification a été interprété par deux théories différentes : celle de Payen et W. Nägeli qui veut que la dextrine produite se transforme à son tour en sucre; et celle de Musculus et O'Sullivan, d'après laquelle l'hydrate de carbone se dédoublerait en dextrine et sucre. Le fait, signalé à propos du *Peziça vesiculosa*, qu'au commencement de la saccharification du glycogène on peut obtenir de la glycogène-dextrine, sans aucun corps réducteur, ce fait, dis-je, ainsi que plusieurs autres me semblent inconciliables avec la seconde théorie.

D'après tout ce qui précède, on pourrait essayer le schéma suivant pour le groupement des hydrates de carbone qui nous occupent ici :

¹ Parmi les plus récents et les plus importants, on peut citer : W. Nägeli, *op. cit.*; — Kühne, *Lehrb. d. physiol. Chem.*, 1868, p. 63; — Musculus et v. Mering, *Hoppe-Seyler's Zeitschr.*, II, 1878, p. 403; — etc., etc.

I. GROUPE DE LA CELLULOSE.

II. GROUPE DU GLYCOGÈNE.

Corps incristallisables; solutions opalescentes, ne réduisant pas les liqueurs cupro-alcalines.

Dextrogyres :

Glycogène du foie.
Glycogène des muscles.
Xanthoglycogène.
Achrooglycogène.
Glycogène-dextrine.

III. GROUPE DE L'AMIDON.

Corps cristallisables, biréfringents, avec une tendance marquée à former des sphéro-cristaux; solutions très peu ou point opalescentes.

Dextrogyres :

Amidon ¹.
Amylodextrines.

Lévogyre :

Inuline.

IV. GROUPE DE LA DEXTRINE.

Solubilité seulement apparente du glycogène;

J'ai toujours parlé, dans ce travail, du glycogène comme d'un corps soluble dans l'eau et, en effet, il traverse parfaitement les filtres avec ce liquide. Pourtant, à proprement parler, il ne s'y dissout pas, il ne s'y résout pas en ses molécules : il y forme seulement une sorte d'empois mince, à un état de division mécanique et de gonflement extrêmes. Brücke l'a prouvé ² en montrant que la prétendue solution diffuse la lumière et que cette lumière est polarisée, absolument comme lorsque de petites particules solides, réfléchissantes,

¹ J'admets ici, avec W. Schimper (*Unters. üb. d. Wachstum d. Stärkekörner, Bot. Zeit.*, 1881, p. 15 du tiré à part) que les grains d'amidon sont des *sphéro-cristaux*, ou, mieux, des *sphéro-cristalloïdes*. Les amylo-dextrines forment, à proprement parler, des *disco-cristaux* (Nägeli), l'inuline, des *sphéro-cristaux*.

² Brücke, *Vorles. üb. Physiologie*, 3^{te} Aufl., I, 1881, p. 325.

sont suspendues dans l'eau. Boehm et Hoffmann en ont aussi donné une élégante démonstration ¹, fondée sur ce que les solutions de glycogène enlèvent aux globules sanguins leur matière colorante, comme le fait l'eau pure, tandis que les solutions salines ou sucrées laissent les globules colorés.

von Vintschgau et Dietl ont reconnu ², par le même procédé que Brücke, que leur β glycogène-dextrine (probablement identique avec la glycogène-dextrine de Kühne) qui donne des solutions limpides, n'est cependant, en réalité, pas plus soluble que le glycogène.

de la glycogène-dextrine ;

J'en puis dire autant de cette amylo-dextrine que de l'amylo-dextrine; Musculus a décrite sous le nom d'*amidon soluble* : elle ne forme pas non plus une véritable solution comme on l'a admis jusqu'ici. J'ai pu me servir pour cette expérience d'un peu d'amidon soluble de M. Musculus lui-même, que je dois à l'obligeance de M. Arthur Meyer, assistant à l'Institut pharmaceutique de Strasbourg. J'ai concentré, au moyen d'une lentille, un faisceau de rayons solaires et j'ai interposé sur son parcours une solution aqueuse, soigneusement filtrée, d'amidon soluble. Le trajet des rayons, dans le liquide, s'illumine nettement et la lumière que le liquide diffuse, examinée au moyen de l'analyseur de Hartnack, apparaît en grande partie polarisée. Le liquide lui-même, tout à fait transparent à la lumière transmise, présente une très-faible opalescence à la lumière réfléchie. Ainsi l'« amidon soluble » est, en majeure partie au moins, suspendu, mais non dissous dans l'eau et, à ce point de vue, il se conduit tout à fait comme la glycogène-dextrine : c'est une nouvelle analogie entre les amylo-dextrines et les glycogènes. Pour être sûr que le phénomène que je viens

¹ Boehm und Hoffmann, *Arch. f. exp. Pathol.*, X, 1879, p. 1.

² v. Vintschgau und Dietl, *Pflüger's Archiv*, XVII, 1878, p. 160-161.

de décrire provient bien de l'amyloextrine et non d'une trace de l'amidon primitif qui restait dans le liquide, je l'ai fait bouillir pendant une dizaine de minutes avec de l'acide sulfurique très faible : les plus petites quantités d'iode colorent alors le liquide en rouge et non plus en bleu ou en violet, de sorte qu'il n'y a plus du tout d'amidon ordinaire en présence. Le liquide, deux fois filtré, n'en a pas moins présenté toutes les propriétés optiques dont je viens de parler : il est donc établi qu'elles appartiennent à l'« amidon soluble » — et certainement aussi aux autres amyloextrines.

et de l'inuline.

Les solutions d'inuline, préparées à chaud, refroidies et filtrées deux fois s'illuminent aussi, d'après mes observations, sur le trajet des rayons et les renvoient faiblement polarisés : l'inuline, elle aussi, n'est donc qu'en partie dissoute dans ses solutions. Ce fait concorde très bien avec les autres propriétés connues des solutions d'inuline et explique la facilité avec laquelle cette substance donne des solutions sursaturées : la portion d'inuline vraiment dissoute correspond à l'*inuline cristalline difficilement soluble, diffusible*, de Dragendorff, et la portion qui est seulement en suspension mécanique répond à son *inuline colloïdale facilement soluble, non diffusible*¹.

La propriété de donner de ces pseudo-solutions se retrouve ainsi chez tous les hydrates de carbone dont le poids moléculaire est probablement très élevé : amidon, glycogène, amyloextrine, glycogène-dextrine, inuline. La faculté de se colorer par l'iode ne serait-elle pas en relation avec cette propriété ? Cela me paraît au plus haut point vraisemblable, car on sait que les colorations provoquées par l'iode sont dues, non à des combinaisons, mais à des répartitions moléculaires plus ou moins

¹ Dragendorff, *Materialien z. einer Monogr. d. Inulins*, 1870, pp. 55, 64, 66 et passim.

denses de l'iode entre les particules de la substance organique qu'il colore. Mais ce n'est pas assez qu'un hydrate de carbone soit finement suspendu dans l'eau pour qu'il offre une réaction avec l'iode : l'inuline le prouve. La non-solubilité de l'hydrate de carbone paraît donc représenter une condition nécessaire, mais non pas suffisante, pour obtenir une coloration caractéristique.

Au point de vue physiologique, les pseudo-solutions jouent un rôle important. Le fait que l'inuline et le glycogène sont seulement suspendus et non dissous dans le suc cellulaire nous permet, en effet, de comprendre comment ces substances se déposent dans certaines cellules et s'y accumulent presque indéfiniment, à la façon des grains d'amidon ou des grains protéiques.

Importance physiologique de ces pseudo-solutions.

X

RÉSULTATS GÉNÉRAUX.

Dans son excellente Chimie physiologique, Hoppe-Seyler a fait remarquer que les substances albuminoïdes, la cholestérine, la lécithine, le glycogène, les sels de potassium et probablement la nucléine ne font défaut à aucune cellule animale jeune, capable de développer. Toutes ces substances avaient été constatées aussi dans le règne végétal; seul le glycogène n'y était connu que dans les Myxomycètes. Il n'est pas sans intérêt, semble-t-il, de savoir maintenant qu'il existe aussi dans

des organismes incontestablement végétaux. L'unité des phénomènes vitaux dans les deux règnes y gagne une preuve de plus.

L'espoir qu'on avait caressé de trouver peut-être dans le glycogène « ce critérium vainement cherché depuis si longtemps, qui permettrait de fixer les limites des deux règnes, animal et végétal ¹ », cet espoir ne s'est point réalisé. Cela était à prévoir. Et l'on ne court pas grand risque d'être faux prophète en prédisant qu'un tel critérium ne se trouvera pas, parce que les limites elles-mêmes n'existent que dans nos classifications.

Les recherches les plus récentes, notamment celles de Schimper et de Dehnecke, ont enrichi d'une façon heureuse nos connaissances sur la genèse de l'amidon et portent à distinguer, beaucoup plus nettement qu'on ne le faisait, la production de substance organique et la formation de grains d'amidon. A ce point de vue, l'existence du glycogène chez les plantes n'est pas sans importance.

La synthèse de *substance organique* au moyen d'acide carbonique et d'eau, avec dégagement d'oxygène, reste l'apanage de l'appareil chlorophyllien.

La formation de *grains d'amidon* aux dépens de composés ternaires (probablement sucrés) préexistants, est sans doute toujours liée à des corps protoplasmiques spéciaux, les amyloplastés ² de Schimper. La chlorophylle n'a rien à voir dans ce phénomène.

¹ Certes, *Sur la glycogénèse chez les Infusoires*, *Comptes rendus*, t. XC, 1880, p. 79.

² Le mot *Stärkebildner* de Schimper (*Bot. Zeit.*, 1880, col. 886) a été assez malheureusement traduit par « corpuscules amylogènes » (*Ann. Sc. nat.*, (6), XI, 1881, p. 258) : amylogène a déjà été employé pour désigner tant de choses différentes, que je me permets de proposer, d'accord avec mon ami M. Schimper, le terme d'*amyloplastés* ; il paraît aussi préférable à celui de *leucites actifs* de Van Tieghem (*Traité de Botanique*, p. 486).

Enfin, dans les deux règnes, le protoplasme ordinaire, je veux dire non différencié en amyloplastés, est capable de former, au moyen de corps ternaires dissous, un hydrate de carbone voisin de l'amidon : *le glycogène*.

Il est donc probable que des corps chimiques distincts président à ces trois actes chimiques différents : *a.* réduction de l'acide carbonique et de l'eau ; *b.* transformation de la matière organique en grains d'amidon et *c.* transformation de la matière organique en glycogène. La chlorophylle seule peut accomplir le premier acte ; le second et le troisième sont sans doute opérés par des ferments, dont l'un doit exister à la fois dans les corps chlorophylliens et les amyloplastés incolores, tandis que l'autre, moins localisé encore, se retrouve chez les protoplasmes les plus divers.

Parmi les plantes, je n'ai rencontré jusqu'à présent le glycogène, *avec une certitude absolue*, que dans des Champignons. Mais toutes les autres plantes étudiées, qu'elles renferment de l'amidon ou qu'elles en soient privées, m'ont fourni dans leurs extraits aqueux une substance non azotée, précipitable par l'alcool, qui ne bleuit pas l'iode et qui ne réduit l'oxyde de cuivre alcalin, qu'après ébullition avec les acides. Ce résultat, qu'une détermination plus précise de la substance devra compléter, n'en a pas moins, je crois, dès maintenant quelque intérêt et nous révèle une cause d'erreur dans plusieurs analyses de végétaux que d'autres auteurs ont publiées. C'est ainsi que la *diastase*, préparée par le procédé de Payen et Persoz, a dû souvent être accompagnée d'une semblable substance qui tendait alors à rendre les quantités de sucre, produites par l'effet de cette diastase, plus grandes qu'elles n'auraient dû l'être et d'autant plus excessives qu'on employait plus de diastase : c'est ce qui paraît, en effet, être arrivé dans certaines expériences.

Pour terminer, je résumerai les principales conclusions qui se dégagent de ce travail :

1. Le GLYCOGÈNE ou « AMIDON ANIMAL » n'existe pas seulement chez les Animaux, où Claude Bernard l'a découvert, et chez les Protistes, où il a été signalé d'abord par Kühne : on le trouve aussi chez des Plantes.
2. Beaucoup de CHAMPIGNONS ASCOMYCÈTES en renferment dans leur tissu et dans leurs asques. Le *Pilobolus*, et, presque certainement, la levure de bière en contiennent également. L'identité du glycogène du *Peziiza vesiculosa*, que j'ai étudié le plus en détail, avec le glycogène du foie des Mammifères, est complète.
3. L'ÉPIPLASME des asques d'Ascomycètes, entrevu par Tulasne et décrit par de Bary, est formé d'une masse spongieuse, très probablement albuminoïde, toute imprégnée d'un empois de glycogène.
4. MÊME EN DEHORS DES CHAMPIGNONS, toutes les plantes étudiées (*Lemanea*, *Linum*, *Mahonia*, *Solanum*) renferment des substances tout au moins analogues au glycogène, non azotées, donnant des solutions aqueuses plus ou moins opalescentes qui brunissent plus ou moins par l'iode, ne réduisant absolument pas les réactifs cupro-alcalins, mais se transformant en corps réducteurs par l'ébullition avec l'acide sulfurique étendu.
5. Il existe aussi des CORPS RÉDUCTEURS, analogues aux dextrines, dans les extraits aqueux de plusieurs plantes (*Tuber*, *Agaricus*, *Solanum*); chez d'autres, nous ne les avons pas trouvés (*Peziiza*, *Lemanea*).
6. Lorsqu'il n'est pas en trop petite quantité, le glycogène peut se déterminer par VOIE MICROCHIMIQUE à son aspect, à sa consistance demi-fluide, à

l'absence de réaction avec l'acide osmique, le réactif de Millon et les sels de fer, à sa solubilité dans l'eau et à ce qu'il prend par l'iode une couleur brun acajou ou brun-rouge qui se dissipe par la chaleur et reparait par le refroidissement. — Les substances protéiques, au contraire, deviennent jaunes plutôt que brunes par l'iode et cette coloration ne diminue point par un échauffement modéré.

7. Le glycogène des Ascomycètes, d'abord diffus dans toute la jeune plante, comme il l'est dans le règne animal chez le fœtus, s'accumule bientôt dans les asques en quantité considérable, pour en disparaître à mesure que les spores mûrissent.
 8. Il est utilisé pour le développement des spores. En dehors de son rôle éventuel de réserve respiratoire, il y a de bonnes raisons pour supposer que, chez les Truffes et probablement encore chez d'autres Ascomycètes, il fournit les matériaux pour la formation de l'huile des spores mûres.
 9. Autour du glycogène et de l'amidon viennent se ranger quelques substances voisines : c'est ainsi que nous sommes amené à mettre en regard l'un de l'autre UN GROUPE DU GLYCOGÈNE ET UN GROUPE DE L'AMIDON. On peut, avec Boehm et Hoffmann, ranger dans le premier le glycogène du foie et celui des muscles, le xanthoglycogène, l'achrooglycogène et la glycogène-dextrine; je place dans le second l'amidon, les amyloextrines et l'inuline.
 10. Le glycogène, la glycogène-dextrine, l'amidon, l'amyloextrine, l'inuline ne donnent pas avec l'eau des solutions véritables : ce ne sont que des espèces d'EMPOIS plus ou moins minces où la majeure partie de la substance est mécaniquement suspendue. Ce fait aide à comprendre l'emménagement du glycogène et de l'inuline dans des cellules déterminées.
-

A part quelques points accessoires, les recherches qui servent de base à ce travail ont été exécutées pendant le semestre d'hiver de 1881-1882, à l'Université de Strasbourg, dans le laboratoire de botanique de M. le professeur de Bary et dans celui de chimie physiologique de M. le professeur Hoppe-Seyler. Ce m'est un devoir bien agréable d'exprimer ici à ces Messieurs ma plus vive reconnaissance pour leurs précieux conseils et leur appui bienveillant.

THÈSES.

MATHÉMATIQUES.

I. — La théorie des enveloppes, telle qu'elle est exposée dans le *Cours d'Analyse* de Sturm, a besoin d'être complétée.

II. — Soient un point lumineux mathématique et un plan quelconque passant par ce point : le lieu des éléments du plan qui reçoivent du point une quantité donnée de lumière n'est pas seulement un cercle, mais encore une série de lemniscates égales ayant toutes le point lumineux pour centre et le cercle pour enveloppe.

PHYSIQUE.

III. — Le magnétisme des corps simples est périodiquement dépendant de leur poids atomique.

BOTANIQUE.

IV. — Il n'existe aucune différence chimique entre le règne végétal et le règne animal.

V. — Les différenciations du noyau pendant la division des cellules végétales (caryocinèse) sont encore plus semblables qu'on ne l'admet généralement à celles que Flemming et d'autres ont décrites en détail pour le règne animal.

VI. — Les spores des Truffes ne naissent pas successivement, comme on l'a cru jusqu'ici, mais simultanément dans chaque asque.

VII. — La membrane des spores des Truffes est, en grande partie, de nature protéique. Elle se forme, au moins partiellement, par l'apposition externe et la métamorphose d'une couche protoplasmique.

VIII. — Le principe de Sachs de la section rectangulaire des cloisons trouve sa cause immédiate dans la forme géométrique du corps d'achromatine dans lequel apparaît la plaque cellulaire. Ce corps peut être regardé, en général, comme un ellipsoïde de révolution : il ne saurait donc être tangent en son équateur à une surface donnée, qu'à la condition que son plan équatorial soit (sensiblement) perpendiculaire à la surface.

IX. — Le principe de Sachs de la section rectangulaire des cloisons n'entraîne pas nécessairement une disposition en trajectoires orthogonales : cette disposition n'est qu'un cas limite dont les tissus s'approchent d'autant plus que leurs cellules sont plus petites. A ce point de vue, les cloisons en apparence obliques des rhizoïdes des Mousses et de Chara sont très instructives.

X. — Quand une plante contient dans ses réservoirs nutritifs à la fois des hydrates de carbone et des graisses, il est très probable qu'à cette dualité chimique répond aussi une dualité fonctionnelle, les premiers étant surtout histogénétiques, les seconds surtout respiratoires. On peut invoquer à l'appui leur répartition dans

les graines, leur structure chimique, leur chaleur de combustion (hydrates de carbone : environ 4,000 calories par kilogramme; graisses : environ 9,000 calories).

XI. Il y a de sérieuses raisons pour regarder les Solanées comme les ancêtres immédiats des Scrophularinées.

HISTOIRE DES SCIENCES.

XII. — La loi de la chute des corps dans le vide, attribuée souvent à Benedetti (1553), se trouve déjà clairement exprimée dans Lucrece (*De Rerum Natura*, II, 238-239).

