

Les sels du cuivre pénètrent-ils dans les végétaux sulfatés?

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **39 (1903)**

Heft 148

PDF erstellt am: **23.07.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

II

Les sels de cuivre pénètrent-ils dans les végétaux sulfatés ?

Historique.

En 1887 déjà, Millardet et Gayon¹ supposaient que les sels de cuivre étaient absorbés en partie par les feuilles sulfatées et communiquaient à ces dernières une sorte d'immunité contre le mildiou.

Alessandri², pulvérisant sur les feuilles des solutions de sulfate de cuivre ainsi que de l'eau céleste [Cu(OH)₂ en solution ammoniacale], aurait constaté une pénétration de ces sels cupriques solubles au travers de la cuticule jusqu'aux cellules du parenchyme; de là, d'après lui, une partie du métal absorbé entrerait dans la circulation générale tandis que l'autre se combinerait à la chlorophylle sous une forme plus ou moins stable.

En 1890, Salvatori³ analyse les différentes parties des plantes sulfatées et y constate des quantités variables de cuivre, quantités dépendant du mode d'application du composé cuprique et de la nature de ce dernier. Malheureusement, l'auteur n'indique pas de quelle façon il élimine les sels de cuivre adhérents encore à la surface des feuilles.

En 1892, Sestini⁴ cherchant à empoisonner la sève de la vigne pour préserver cette plante de l'invasion du *Pero-nospora*, arrose le sol avec une solution de sulfate de cuivre. Il constate que les feuilles de ces ceps contiennent moins de cuivre que celles des plantes traitées par pulvé-

¹ Millardet et Gayon, *Recherches sur le mildiou*, 1887. 77.

² Alessandri, *Italia agricola*, 1889. 2.

³ Salvatori, *Agricoltura italiana*, 1900. 102.

⁴ Sestini, *Staz. sperim. agric. ital.*, 1892. 108.

risation des sels cupriques. Dans les deux cas, il y aurait donc pénétration de ces derniers.

L'année suivante, C. Rumm¹ arrive à des conclusions absolument opposées à celles des auteurs cités. Travaillant avec la vigne, Rumm constate que les feuilles provenant de treilles sulfatées possèdent une teinte spéciale, vert-foncé; une fois détachées du rameau, elles conservent leur couleur plus longtemps que celles qui n'ont pas subi l'action des sels de cuivre. D'une façon générale, les feuilles sulfatées semblent plus robustes que les autres; la mesure micrométrique de l'épaisseur des différents tissus foliaires conduit, assez généralement, à la même conclusion. Les grains de chlorophylle sont plus petits, mais plus nombreux, dans les cellules en palissade des feuilles sulfatées que dans l'assise cellulaire correspondante des feuilles non traitées; le parenchyme spongieux des premières est plus riche en pigment vert que celui des secondes.

Rumm cherche ensuite à déceler la présence du cuivre dans les feuilles après avoir soumis celles-ci à un lavage prolongé à l'acide. Il utilise la méthode spectroscopique et n'obtient que des résultats négatifs. L'auteur en conclut que les sels de cuivre apportés par les traitements cupriques à la surface des feuilles ne pénètrent pas dans celles-ci mais qu'ils exercent une action de contact ou *action chimiotaxique* — analogue à la stimulation chimiotaxique signalée par Pfeffer² — se traduisant en premier lieu par une production plus intense de la chlorophylle.

Ces conclusions, vivement combattues par Zimmermann³ et Aderhold⁴ furent reprises complètement par Frank et

¹ Rumm., *Berich. d. deuts. bot. Gesell.*, Bd. XI, page 79. **100.**

² Pfeffer, *Ber. der deuts. bot. Gesell.*, 1883. **91.**

³ Zimmermann, *Bot. Centr. Blatt.*, 1893. **136.**

⁴ Aderhold, *Central Blatt für Back.*, Abtf. II., Bd. V. **1.**

Krüger¹ à la suite de leurs recherches sur la pomme de terre. Ces auteurs ne constatent aucune différence morphologique entre les feuilles sulfatées et celles qui ne le sont pas ; l'ensemble des tissus semble cependant plus vigoureux dans les premières, qui possèdent des grains de chlorophylle plus gros et plus nombreux que les secondes. Frank et Krüger donnent encore comme preuve d'une augmentation de la quantité de pigment vert, par le sulfatage, le fait que les extraits alcooliques obtenus des feuilles traitées sont d'un vert beaucoup plus intense que ceux fournis par des feuilles témoins. Je montrerai plus loin quelle importance il faut attribuer à cette constatation. Les auteurs cités signalent une intensité plus grande de l'assimilation et de la respiration dans les feuilles traitées correspondant à une augmentation de la richesse en amidon dans celles-ci.

Frank et Krüger recherchent le cuivre dans les feuilles sulfatées par la méthode électrolytique, sans réussir à déceler la présence de ce métal. Par conséquent, ils n'admettent pas la pénétration des sels cupriques dans le végétal et ont également recours à l'action chimiotaxique évoquée par Rumm, pour expliquer les modifications apportées dans l'allure de la végétation par l'application de remèdes à base de cuivre.

Berlese et Sostegni (1894-95)² concluent, comme Sestini, que la vigne fixe le cuivre dans les parties qui reçoivent ses sels directement. Les feuilles traitées par sulfatage absorbent de très faibles quantités de métal, insuffisantes en tout cas pour les rendre réfractaires à l'invasion du mildiou. Dans les cellules vertes, le cuivre exerce une action sur le cyanophylle et « se combine peut-être avec cette substance de façon à en augmenter la proportion » (?)

¹ Déjà cités. 33.

² Berlese et Sostegni, *Rev. intern. de vitic. et œnolog.*, 1894. 10.

en communiquant à la feuille tout entière une teinte plus foncée. Enfin, les auteurs se refusent à admettre une action chimiotaxique du cuivre, ils sont portés plutôt à appuyer l'hypothèse de Mangin¹ qui suppose que le cuivre doit exercer sur le végétal une action analogue à celle que produisent certains poisons sur l'organisme animal.

En 1897, Bringuier² traite des ceps, partie avec une bouillie alcaline, partie avec une bouillie acide; pendant les cinq à huit premiers jours qui suivent l'opération, il ne constate la présence du cuivre que dans les feuilles ayant reçu le traitement acide; à partir de ce moment la bouillie alcaline commence à pénétrer dans les tissus foliaires. Vingt jours après le sulfatage, on ne constate plus de cuivre dans aucune feuille, alors même que celles-ci possèdent encore des réserves de bouillie à leur surface. Malheureusement, cet auteur ne donne aucun détail sur la méthode analytique qu'il a employée dans ses recherches.

Tout récemment, une nouvelle hypothèse est venue s'ajouter aux précédentes. MM. L. Ravaz et Bonnet³ nient toute action directe du cuivre sur les végétaux. Pour ces auteurs, la maturation plus rapide des fruits de plantes sulfatées n'est pas démontrée; quant à la coloration plus intense et plus persistante du feuillage de ces dernières, elle proviendrait du fait que les sels de cuivre, grâce à leurs propriétés anticryptogamiques, détruiraient toute une série de champignons semi-parasites qui, sans paraître affecter gravement les tissus foliaires, n'en vivent pas moins à leurs dépens; ils affaiblissent la feuille et hâtent sa chute en automne.

Enfin, en 1902, a paru un travail très complet de H. Bain⁴ : *L'action du cuivre sur les feuilles*.

¹ Mangin, *Revue des sciences*, 1894. 66.

² Bringuier, *Messenger agricole du Midi*, 1897. 12.

³ Ravaz et Bonnet, *loc. cit.* 96.

⁴ H. Bain, *Bull. University of Tennessee*, 1902. 5.

L'auteur, en utilisant une méthode toute différente de la mienne, arrive, ainsi qu'on le verra, à des conclusions identiques à celles qui résument ce travail. H. Bain démontre la perméabilité de la cuticule vis-à-vis des sels de cuivre; ces derniers provoquent dans la feuille une stimulation se traduisant par une augmentation de la quantité d'amidon contenu dans les feuilles sulfatées. Cette excitation, en s'accroissant, devient une intoxication qui provoque la mort des parties du limbe en contact avec le composé cuprique et provoquant en outre, dans le pècher du moins, la formation, à la base du pétiole, d'une couche de suber identique à celle qui occasionne la chute automnale des feuilles.

Recherche du cuivre dans les feuilles de végétaux sulfatés.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Le résumé bibliographique qui précède montre que la question de la pénétration des sels de cuivre dans les végétaux, par application extérieure sur les feuilles, est résolue de façons diverses par les auteurs qui s'en sont occupés.

Désirant me faire également une idée personnelle sur ce sujet, j'ai cherché à constater la présence du cuivre dans les feuilles ayant subi un traitement à base de ce métal.

La première méthode employée a été la recherche micro-chimique du cuivre directement dans des coupes d'organes de plantes sulfatées; le réactif utilisé était le ferrocyanure de potassium; ces essais ont toujours été faits de un à six jours après le traitement à la bouillie bordelaise (3% CuSO_4 + 2% CaO).

a) *Recherche du cuivre dans les feuilles.* Les taches de bouillie cuprique — constituant ce que j'appellerai à l'avenir, pour simplifier, *cuivre extérieur* — n'ont pas été la-

vées, de façon à éviter la pénétration du liquide cuprique de lavage à l'intérieur du parenchyme. J'ai découpé soigneusement les portions du limbe comprises entre les taches de bouillie bordelaise, et c'est dans ces fragments que les coupes ont été faites pour être examinées ensuite sous le microscope. Le traitement de celles-ci au ferrocyanure s'opérait directement sous le couvre-objet, en présence d'acide acétique. Cet essai, répété à de nombreuses reprises et sur des feuilles de différentes espèces végétales, ne m'a jamais permis de déceler la présence du cuivre dans les cellules.

Je m'empresse de reconnaître que les conditions dans lesquelles je me suis placé étaient particulièrement défavorables puisque j'évitais par là même d'examiner les cellules les plus directement en contact avec les taches de sels de cuivre et ainsi, je ne pouvais constater que les portions de sels métalliques qui auraient été mises en circulation au sein de la feuille.

J'ai cherché cependant à examiner aussi le contenu des cellules immédiatement sousjacentes aux taches de bouillie bordelaise. Pour cela, les feuilles ont été nettoyées, à sec tout d'abord, aussi soigneusement que possible ; la région où se trouvait la tache a été lavée rapidement avec le minimum possible de liquide acide, puis essuyée tout de suite.

Les coupes faites dans des feuilles ainsi préparées ont donné, ainsi qu'on pouvait le prévoir, des résultats variables et par conséquent incertains. J'ai constaté tantôt l'absence du cuivre dans les tissus, tantôt au contraire la formation de ferrocyanure de cuivre dans les cellules épidermiques. Pour ce qui me concerne, je n'hésite pas à attribuer ce dernier à la présence, soit de traces de cuivre extérieur non dissous par le lavage soit — et ceci paraît plus probable — de petites quantités de métal solubilisé par l'acide de lavage et qui auraient eu le temps de pénétrer au travers de la cuticule, dans les cellules épidermiques,

malgré la rapidité avec laquelle les opérations ont été effectuées. L'irrégularité des résultats est facile à comprendre si l'on songe surtout que la perméabilité de la cuticule varie, pour la même espèce, d'une feuille à l'autre ¹.

Il me paraît donc impossible que l'on puisse se baser sur des constatations aussi irrégulières que celles que je viens de résumer pour admettre la pénétration du cuivre dans les feuilles.

On pouvait éviter la cause d'erreur qui vient d'être mentionnée, en prenant comme matériel une plante dont l'épiderme des feuilles soit facile à détacher. L'iris était tout indiqué pour ces recherches. Quelques plantes d'Iris (*Iris germanica*) ont été traitées copieusement à la bouillie bordelaise; le 1, les 4, 6, 10 jours après, j'ai prélevé des échantillons de feuilles. Celles-ci n'ont, naturellement, subi aucun lavage. L'épiderme a été détaché sur des fragments de feuilles dans lesquels les coupes ont été faites pour être traitées ensuite au ferrocyanure. Il ne m'a pas été possible d'obtenir une coloration indiquant la présence du cuivre.

En face de ces résultats, une première question se posait : est-ce que les sels de cuivre, en pénétrant dans la cellule, ne pourraient pas se fixer immédiatement à tel ou tel groupe organique, formant avec lui une combinaison dans laquelle le métal ne pourrait plus réagir vis-à-vis du ferrocyanure ?

Tschirch ² a montré en particulier que de petites quantités de cuivre pouvaient entrer en combinaison avec un des éléments constituants de la chlorophylle, en formant un composé défini auquel il a donné le nom de phyllocyanate de cuivre. Ce corps possède une couleur verte, plus foncée que celle de la chlorophylle qui lui a donné nais-

¹ Bain, *loc. cit.*, page 67. 5.

² Tschirch, *Das Kupfer vom standpunkt der gericht. Chemie.* 123.

sance, il est en outre plus stable que celle-ci vis-à-vis des acides; or, ce sont précisément là les caractères spéciaux que possèdent les feuilles sulfatées. On pouvait logiquement supposer que s'il y avait formation d'un composé organique de cuivre dans la cellule, ce dernier pourrait bien être du phyllocyanate de cuivre (Tschirch). Il y avait là une méthode indirecte, permettant, cas échéant, de constater la pénétration des sels de cuivre à l'intérieur des feuilles.

Dans ces recherches, il a été procédé comme suit : les feuilles sulfatées ont été dessinées avec soin, de façon à repérer exactement la position des taches de bouillie bordelaise. Les feuilles ont été ensuite immergées dans de l'eau légèrement acidulée d'acides soit minéraux, soit organiques; pour les feuilles de vigne, dont l'altération de la chlorophylle se fait particulièrement promptement, j'ai fait quelques essais par simple immersion dans de l'eau pure. Après un temps plus ou moins long, suivant les liquides et les feuilles en expérience, on constate que la chlorophylle est altérée et que la feuille jaunit. Les premiers points d'attaque ont été repérés sur le dessin de la feuille ainsi que les dernières parties restées vertes. Je n'ai pas pu remarquer la correspondance de ces dernières aux parties du limbe sous-jacentes aux taches de bouillie, comme il semble que cela aurait dû être le cas s'il y avait eu formation de phyllocyanate de cuivre dans ces parties-là. Le jaunissement se manifeste en premier lieu, tantôt le long des nervures ou sur le bord du limbe — c'est-à-dire dans les parties les plus acides de la feuille¹ — tantôt par l'apparition de taches distribuées d'une façon qui paraissait absolument irrégulière et qui, je le répète, m'a semblé n'avoir aucune relation avec la répartition des sels de cuivre à la surface de la feuille.

¹ Astruc, *Recherches sur l'acidité végétale*. 4.

b) *Recherches du cuivre dans le pétiole des feuilles.*

Pour ces recherches, le pétiole semblait être *a priori* un matériel plus favorable que le limbe de la feuille, car s'il y avait pénétration et mise en circulation des sels de cuivre dans le végétal, on aurait, concentré sur la section relativement faible du pétiole, un courant contenant la presque totalité du métal absorbé par toute la surface du limbe. Il était en outre très facile de faire des coupes transversales, en évitant les parties du pétiole tachées de bouillie bordelaise. Malgré cela, je n'ai obtenu que des résultats négatifs, c'est-à-dire que je n'ai pas constaté de cuivre dans les tissus du pétiole.

c) *Recherches du cuivre dans les rameaux.*

Berlese et Sostegni¹ ont montré que dans les tiges herbacées de la vigne, c'est le collenchyme qui a la propriété de fixation la plus marquée pour le cuivre. Ces auteurs, il est vrai, ont introduit de grandes quantités de ce métal dans des tiges coupées en faisant tremper l'extrémité de celles-ci dans des solutions cupriques. Mes recherches ont porté surtout sur le groseiller à grappes dont j'ai examiné les rameaux de l'année, 4 à 10 jours après le traitement à la bouillie bordelaise. Là encore, je n'ai jamais pu constater le cuivre dans des coupes faites sur les régions du rameau n'ayant pas de taches de bouillie cuprique. Dans les parties en possédant, j'ai obtenu quelquefois, après lavage acide de la branche, une légère coloration rose par le traitement au ferrocyanure, mais cette coloration étant toujours localisée à la région corticale de la coupe, ne pouvait provenir, à mon sens, que de la pénétration dans les cellules épidermiques de petites quantités de liquide cuprique de lavage.

¹ Berlese et Sostegni, déjà cités. 10.

En résumé, je ne suis pas parvenu à déceler, et cela d'une façon certaine, la présence du cuivre dans les tissus des feuilles et rameaux de végétaux ayant reçu l'application extérieure de bouillie bordelaise, c'est-à-dire de bouillie nettement alcaline.

En présence de ces résultats, il était tout indiqué de continuer les recherches du cuivre, non plus dans quelques cellules, mais dans plusieurs feuilles en ayant recours à l'analyse chimique.

RECHERCHE DU CUIVRE DANS LES FEUILLES PAR ANALYSE CHIMIQUE.

J'ai tout d'abord travaillé en utilisant la méthode suivante, indiquée par Rumm :

Dix feuilles de vigne ayant reçu deux traitements à la bouillie bordelaise, ont été cueillies quinze jours après le second sulfatage et lavées soigneusement avec de l'acide chlorhydrique (1 : 3) jusqu'à ce que le liquide acide de lavage ne donne plus la réaction du cuivre. A ce moment, on constate régulièrement qu'une partie de la chlorophylle est attaquée par l'acide, les feuilles devenant plus ou moins brunes. Elles ont été ensuite incinérées, après un lavage à l'eau, jusqu'à disparition de la réaction acide, et les cendres utilisées pour la recherche qualitative du cuivre au moyen des réactifs ordinaires : ammoniacque, ferrocyanure de potassium et par les réactions chimiques¹.

Aucune de ces méthodes ne m'a permis de déceler même des traces de cuivre dans les cendres examinées.

Plusieurs essais analogues ont été faits avec des feuilles de groseillers à grappes et de groseillers à gros fruits. Les échantillons prélevés étaient toujours de cinq à quinze feuilles, lavées soigneusement une à une, de la façon indiquée plus haut. Les résultats furent toujours négatifs.

¹ Klement, *Réactions microchimiques*. 56.

C'est en tenant compte de ces constatations, ainsi que d'une partie des recherches par voie microscopique, que, en 1899, la conclusion suivante a été publiée : « ... Nous avons constaté l'absence totale de cuivre dans la feuille traitée, après élimination sur celle-ci des résidus de traitement par un lavage à l'acide chlorhydrique². »

Depuis lors, les recherches diverses entreprises dans ce domaine m'ont fait prévoir que si les végétaux sulfatés absorbaient une partie des sels de cuivre répandus sur leurs feuilles, cette absorption ne devrait porter que sur de très petites quantités de métal. Dans ces conditions, les résultats de recherches faites sur quinze feuilles au maximum ne semblaient plus offrir une certitude suffisante et demandaient à être confirmés par de nouveaux essais s'étendant sur un matériel plus abondant.

Ces nouvelles analyses ont été faites avec des feuilles de groseillers à grappes et groseillers à épines, avec celles de la vigne et de la pomme de terre. Pour abrégé, je ne mentionnerai en détail qu'une série de ces recherches, de façon à indiquer la méthode suivie pour toutes.

Le 14 juillet, un buisson de groseillers à grappes a été copieusement sulfaté à la bouillie bordelaise ; ces arbustes n'avaient subi encore aucun traitement au cuivre, ni dans l'année courante, ni dans les années précédentes. Le lendemain, un échantillon de cent feuilles a été prélevé ; celles-ci ont subi un premier nettoyage à sec, au moyen d'une brosse douce, de façon à enlever la plus grande partie de la bouillie cuprique encore adhérente à leur surface ; puis chacune d'elles a été plongée séparément dans de l'acide chlorhydrique (1 : 3), frottée à la main pour faciliter le nettoyage et placée immédiatement après dans un cylindre perforé, plongeant dans de l'eau courante.

L'immersion dans l'acide n'a jamais dépassé trois à

² E. Chuard et F. Porchet, déjà cités. 19.

quatre secondes, et le liquide acide était renouvelé en général lorsqu'il avait servi à nettoyer une dizaine de feuilles. Toutes ces précautions étaient prises pour éviter, autant que faire se pouvait, la pénétration dans la feuille du liquide de lavage, plus ou moins chargé de cuivre ; c'est là une cause d'erreur à laquelle on n'a peut-être pas suffisamment pris garde, dans plusieurs travaux. Après ce premier lavage, les feuilles ont été reprises et placées, toujours une à une, dans de l'acide chlorhydrique (1 : 10) où elles ont séjourné jusqu'à ce que l'altération de la chlorophylle commence à se manifester, c'est-à-dire pendant deux à dix minutes, suivant les feuilles. De là, elles ont subi un deuxième lavage, prolongé, à l'eau courante, puis, pour terminer, sont restées pendant une heure dans de l'eau distillée à laquelle elles ne communiquaient plus de réaction acide ; ces feuilles ont été ensuite séchées et analysées.

De nouveaux échantillons, de plus en plus importants, ont été prélevés 2, 3, 5, 8, 17, 21 jours après le sulfatage. Tous ont été lavés comme le premier. En général, j'ai également conservé pour l'analyse le deuxième liquide acide de lavage (HCl, 1 : 10). Une partie du dernier échantillon a subi cependant un traitement spécial. Un lot de trois cent quarante feuilles a été prélevé, vingt-un jours après le sulfatage et traité tout d'abord comme les précédents. Après le second lavage acide, une partie, cent dix feuilles, a été séchée et conservée pour l'analyse, tandis que l'autre, deux cent trente feuilles, était soumise à un troisième lavage acide, très prolongé, de façon à produire une altération profonde de la chlorophylle. Les feuilles, complètement brunes, commençaient à se désagréger lorsqu'elles ont été retirées du liquide acide, pour être placées dans l'eau courante, puis dans l'eau distillée jusqu'à disparition de la réaction acide dans le liquide qu'on en exprimait par pression. Le troisième acide, fortement coloré

en brun, a été conservé pour la recherche du cuivre. Cette dernière a été faite par méthode colorimétrique de la façon suivante : Après incinération des feuilles, les cendres ont été dissoutes dans de l'acide azotique ; après avoir étendu la dissolution, on l'a sursaturée par l'ammoniaque ; après filtration, le liquide a été très fortement concentré, puis repris par quelques gouttes d'acide azotique, sursaturé avec de l'ammoniaque concentré, puis examiné colorimétriquement. Pour reconnaître la coloration bleue de l'oxyde de cuivre ammoniacal, j'ai employé de longs tubes à parois minces, de 75 cm. de longueur avec un diamètre de 7 mm., ce qui représente, par conséquent, une capacité de 29 cm. environ. Une série de tubes ont été remplis avec des solutions ammoniacales contenant de 0,05 mg. à 1 mg. Cu. En concentrant la solution, on peut du reste facilement apprécier colorimétriquement de 0,02 à 0,2 mg. Cu, au moyen de tubes de 20 cm. de longueur et 4 mm. de diamètre. L'échelle colorimétrique ainsi obtenue permettait de déterminer très rapidement, par comparaison des intensités de coloration des colonnes liquides, les quantités de cuivre contenues dans les solutions. En procédant ainsi, on apprécierait, sans aucune difficulté, le 0,05 mg. Cu si on travaillait avec des solutions pures de sel de cuivre ; il n'en est malheureusement pas ainsi pour le liquide en expérience, à cause de la légère coloration jaune, visible sur une grande épaisseur et qu'il est impossible d'éviter ; on n'a pas à comparer du bleu au blanc, mais bien du vert au jaune, ce qui est plus difficile, en sorte qu'on ne peut guère apprécier exactement qu'à partir de 0,1 mg. Cu. Au reste, il est évident que si les résultats obtenus par cette méthode, dans un cas donné, avaient été douteux, j'aurais eu recours à la méthode électrolytique ; cela n'a pas été nécessaire car, ainsi qu'on va le voir, en travaillant sur 10 gr. de feuilles sèches, au minimum, j'ai toujours trouvé plus de 0,25 mg. de Cu, c'est-à-

dire des quantités très facilement dosables par voie colorimétrique.

Voici les résultats obtenus de cette façon avec les feuilles de la série dont nous nous occupons.

Nombre de jours écoulés entre le sulfatage et la prise d'échantil.	Nombre de feuilles	Poids de feuilles sèches en gr.	Cu dans les feuilles		Cu ds les liquides acides		Gr. Cu total pr 100 gr. feuilles sèches
			Gr. Cu trouvé	Gr. Cu pour 100 gr. feuilles sèches	Gr. Cu trouvé	Gr. Cu pour 100 gr. feuilles sèches	
1	96	10.7	0.0005	0.0047	0.0005	0.0047	0.0094
2	100	11.1	0.0005	0.0045	0.0005	0.0045	0.0090
3	88	10.0	0.0005	0.0050	—	—	—
5	190	23.8	0.00025	0.0010	0.0017	0.0071	0.0081
8	160	20.3	0.0010	0.0048	0.0010	0.0049	0.0097
17	280	34.7	0.00012	0.0034	0.0010	0.0029	0.0063
21	110	15.1	0.0007	0.0046	0.0012	0.0079	0.0125
21 bis	230	30.2*	0.0005	0.0016	0.0012	0.0039	0.0055

* Poids calculé au moyen du lot de 110 feuilles, les feuilles traitées par l'acide ayant perdu beaucoup de substances, solubilisées par Hcl., ne pesaient en réalité que 24.9 gr.

Les résultats donnés sous 21 bis sont ceux du lot de feuilles traitées à fond par l'acide. Comme on le voit, après deux lavages acides, il y avait encore *dans* ou *sur* celles-ci 0,0055 gr. Cu pour 100 gr. de feuilles et le troisième lavage laisse encore 0,0016 gr. Cu % insoluble. Ce dernier fait m'a paru particulièrement important et je l'ai vérifié à plusieurs reprises, en modifiant plus ou moins la méthode de lavage. Voici un deuxième exemple :

125 feuilles de vigne, cueillies dix jours après le traitement à la bouillie bordelaise, ont été placées pendant six heures dans un courant d'eau de façon à enlever le plus possible de la bouillie encore adhérente, tout en facilitant la dissolution subséquente de ce qui ne serait pas entraîné par l'eau. Les feuilles, après avoir subi un premier lavage à l'acide chlorhydrique, furent placées de nouveau dans l'eau courante, puis dans l'eau distillée. Celle-ci ne

donna pas la réaction du cuivre à l'analyse. Puis les feuilles furent traitées une deuxième fois à l'acide jusqu'à brunissement complet (la plupart étaient déjà brunes : les feuilles de vigne s'altérant très rapidement même par simple immersion dans l'eau). Après un lavage prolongé, jusqu'à disparition de réaction acide, les feuilles furent incinérées ; leurs cendres contenaient du cuivre.

Des essais analogues ont été répétés souvent et je n'ai jamais pu obtenir, en travaillant avec un matériel un peu abondant, de cendres de feuilles sulfatées ne donnant pas la réaction du cuivre, alors même que, dans un cas, des feuilles de pommes de terre ont séjourné pendant vingt-quatre heures dans de l'acide chlorhydrique (1 : 3).

De ces recherches il résulte que :

1^o En opérant comme je l'ai fait, il est impossible d'éliminer les sels de cuivre adhérents à la surface des feuilles sulfatées à la bouillie bordelaise sans en altérer la chlorophylle.

2^o Même par un lavage acide prolongé on ne réussit pas à obtenir des feuilles ne donnant plus la réaction du cuivre.

Trois interprétations de ces faits me semblent possibles : ou bien le cuivre extérieur est sous une forme suffisamment insoluble pour que la feuille soit désagrégée complètement par l'acide avant que celui-ci ait pu dissoudre les sels de cuivre ; ou bien le cuivre qui résiste aux lavages répétés n'est pas du cuivre extérieur, il a été, au contraire, fixé d'une façon quelconque à l'intérieur des cellules de la feuille et il n'est mis en liberté et solubilisé qu'au fur et à mesure que les tissus se dissocient ; ou bien, enfin, le cuivre extérieur, dissous par l'acide, forme une combinaison insoluble avec une substance organique de la feuille désagrégée. On a signalé, par exemple ¹, le grand pouvoir de fixation que possède, vis-à-vis des sels de cuivre, la cuticule morte qui, à l'état vivant, ne retient pas ces derniers ².

¹ Millardet. 74.

² Berlese et Sostegni. 10.

Je n'ai obtenu aucun résultat me permettant de me prononcer en faveur de l'une ou l'autre de ces hypothèses. Il suffira de constater que la présence de cuivre dans les cendres de plantes sulfatées ne permet pas de conclure à la pénétration des sels de cuivre dans les végétaux, puisqu'il est impossible de savoir si ce cuivre est extérieur ou intérieur.

L'analyse chimique ne nous donne par conséquent pas la solution du problème posé au début de ce chapitre.

Je n'ignore pas que cette conclusion est opposée à celles de plusieurs auteurs qui, au moyen de l'analyse chimique, sont arrivés à démontrer qu'il y a pénétration des sels de cuivre dans les feuilles. Quelques-uns, malheureusement, ne nous donnent pas le détail des méthodes employées pour éliminer le cuivre extérieur ; d'autres se sont placés dans des conditions toutes spéciales, différant de celles dans lesquelles opère la pratique, par exemple en sulfatant avec des solutions pures de sulfate de cuivre qui, sous cette forme, pénètre naturellement dans la feuille si ce n'est par voie physiologique, tout au moins simplement par osmose, après avoir tué les cellules dans lesquelles il pénètre ; d'autres, enfin, constatant du cuivre dans les feuilles incinérées, le considèrent comme cuivre intérieur alors même que ces feuilles, lavées à l'acide jusqu'à disparition de la réaction du cuivre dans les eaux de lavage, ont de nouveau cédé de petites quantités de ce métal lorsqu'on les plongeait dans l'ammoniaque.

* * *

Ne pouvant éliminer le cuivre sans altérer la chlorophylle, on peut se demander s'il ne serait pas possible de faire l'inverse, c'est-à-dire d'extraire la chlorophylle pour y chercher le cuivre ensuite. En premier lieu, dans le cas où les sels de cuivre pénétreraient dans les feuilles, on n'est pas certain qu'ils se combineraient avec la chloro-

phylle ; de plus, il est très difficile d'éviter que des traces de cuivre ne soient entraînées avec le liquide alcoolique et ne viennent donner naissance à du phyllocyanate de cuivre. Ce sel, en effet, peut se former très facilement, je m'en suis rendu compte par les essais suivants.

Des feuilles diverses ont été placées dans des vases à précipités contenant les uns de l'eau pure, les autres des solutions très diluées de sulfate de cuivre, le tout a été porté à ébullition ou dans d'autres cas simplement chauffé au bain-marie. Dans ces conditions on constate, après un temps variable suivant les espèces végétales, un brunissement ou un noircissement assez rapide des feuilles ; celles qui baignent dans les liquides cupriques reverdissent bientôt pour acquérir une teinte beaucoup plus vive que celle qu'elle possédait au début.

La feuille qui m'a donné les meilleurs résultats, en ce qui concerne la sensibilité, est celle du groseiller à épine, non pas que son pigment réagisse d'une façon spéciale vis-à-vis des sels de cuivre, mais parce que, grâce à leur forte cuticule, ces feuilles peuvent supporter plus longtemps que d'autres l'action de l'eau chaude sans se désagréger, permettant ainsi une action plus prolongée du liquide cuprique. Avec ces feuilles je suis arrivé à déceler nettement la présence du cuivre dans un liquide ne contenant que 0,000057 gr. Cu. Il suffit donc de traces de ce métal pour provoquer la formation du phyllocyanate. Ce dernier sel peut même prendre naissance facilement à froid ainsi que l'expérience suivante le démontre.

25 gr. feuilles de vigne n'ayant reçu aucun traitement ont été extraits par 500 cm³ alcool auquel j'avais ajouté 0,01 gr. FeSO₄. Dans un deuxième lot identique le sel de fer était remplacé par 0,01 gr. CuSO₄ ; un troisième lot servait de témoin. A titre de comparaison j'ai étudié, parallèlement l'extrait obtenu avec 25 gr. de feuilles de groseillers à grappes et 500 cm³ d'alcool. L'examen spectroscopique des liquides, fait à divers intervalles sur une

épaisseur de solution de 10 mm., a donné les résultats suivants :

L'extraction a été commencée le 1^{er} septembre.

Les extraits ont été examinés le :

Longueurs d'ondes en millièmes de millimètres.

Vigne témoin.

Raies d'absorp.	5 septembre	22 septembre	29 septembre	10 octobre	20 décembre	18 février
I	682—644	676—642	678—646	682—648	674—646	676—646
II	611—600	613—598	613—602	621—602	615—602	613—602
III	543—530	541—528	538—531	546—531	543—531	538—531
IV	pas visible	—	—	—	512—510	512—507
V	514	512	489	488	488	486

Vigne + 0.01 gr. Cu SO₄.

I	673—636	676—634	672—640	678—640	674—638	676—636
II	estompée	613—592	613—590	617—598	617—597	617—595
III	estompée	538—531	538—530	541—533	540—536	540—535
IV	pas visible	—	—	—	—	—
V	495	494	494	494	490	491

Vigne + 0.01 gr. Fe SO₄.

I	678—644	676—644	676—650	680—648	676—646	676—646
II	614—598	613—595	613—602	617—602	613—602	613—602
III	543—530	541—528	541—531	546—531	541—531	538—531
IV	pas visible	—	—	—	512 env.	513—511
V	495	494	491	491	488	486

Groseilles à grappes, témoin.

I	682—636	676—634	678—640	682—642	—	678—642
II	608—600	617—595	617—600	625—598	—	615—597
III	538—530	541—528	543—528	546—531	—	538—531
IV	—	—	—	—	—	512—488
V	512	514	498	503	—	500

Il ressort de ces chiffres que les sels de cuivre agissent d'une façon très nette sur les extraits chlorophylliens alcooliques, même à froid ; ils peuvent modifier d'une façon très notable les spectres de ceux-ci. On remarque que le sulfate de fer provoque aussi de légères modifications dans la largeur et la disposition des raies et bandes d'absorption ; mais ces écarts s'atténuent peu à peu et lorsque les phénomènes d'oxydation se sont poursuivis pendant assez longtemps le spectre de la solution chlorophyllienne ayant reçu du fer est identique à celui de la solution témoin.

Il est très probable que dans les conditions de ces expériences il y a formation de phyllocyanate de cuivre, car le liquide obtenu présente tous les caractères de ce corps : couleur vert-bleu, disparition presque complète du dichroïsme, stabilité vis-à-vis des acides, spectre d'absorption. Le fer doit être entré aussi en combinaison formant un composé analogue à celui obtenu avec le cuivre. Schunck¹ (pour qui les phyllocyanates sont des combinaisons doubles de phyllocyanine et acide gras avec un métal), a montré que la phyllocyanine donne avec le fer deux séries de combinaisons suivant l'acide en présence. Le premier groupe (acides acétique, palmitique, oleïque) donne des composés dont les spectres présentent des raies déplacées vers le violet ; le deuxième groupe (acides citrique, oxalique, malique, etc.), donne des composés dont les spectres sont identiques à celui de la chlorophylle dont ils dérivent. Il en résulte que lors même que les spectres des solutions témoin et traitées au FeSO_4 sont identiques, cela n'implique pas nécessairement que le fer ne soit pas entré en combinaison.

Quoiqu'il en soit, ce qui précède montre qu'il suffit de très faibles quantités de cuivre pour communiquer aux extraits chlorophylliens des propriétés particulières et je crois qu'il y a là une cause d'erreur à laquelle on n'a pas

¹ *Berl. Berich.* 106.

toujours suffisamment pris garde. En effet, plusieurs auteurs, voulant comparer l'intensité de coloration de feuilles sulfatées et non traitées, extraient simplement à l'alcool des quantités égales de limbe ; dans ces conditions, les parcelles de cuivre qui peuvent être encore adhérentes aux feuilles ou celles qui ont été solubilisées par un lavage, peuvent donner naissance à du phyllocyanate de cuivre auquel il faudrait attribuer pour une très large part, si ce n'est complètement, la plus grande intensité de coloration de l'extrait chlorophyllien obtenu avec des feuilles sulfatées.

Par conséquent, soit la recherche du cuivre dans les feuilles, soit l'étude du pigment de ces dernières ne nous donnent pas de renseignements précis sur la pénétration ou la non pénétration des sels de cuivre dans les végétaux sulfatés.

Renonçant à la méthode par analyse chimique, j'ai cherché à résoudre le problème d'une façon indirecte. Il m'a paru que si l'on pouvait démontrer qu'en introduisant certaines quantités de sels de cuivre dans un végétal, on donnait naissance à des phénomènes identiques à ceux qui sont provoqués dans ce même végétal par le sulfatage, on aurait démontré d'une façon absolue que, dans le second cas, ces phénomènes sont bien dus à la pénétration des sels cupriques dans la plante.
