

que le verre mince, la glycérine mêlée à l'essence d'anis, par exemple, ou même cette dernière seule; plus tard il reconnut que l'eau distillée suffisait très-bien à la condition de corriger les faibles aberrations produites par les différences d'épaisseur relatives des milieux superposés, verre et eau. Ces aberrations augmentent assez du reste pour exiger que l'objectif soit muni d'un appareil à correction, si l'on passe d'un objet monté à sec à un objet monté dans la térébenthine dite baume du Canada.

256. Les avantages de l'application du principe de l'immersion sont considérables. Premièrement, par suite de la suppression de la brusque réfraction des rayons marginaux entrant dans l'air au sortir du verre mince, une notable partie de ces rayons est admise par la lentille alors qu'elle aurait été perdue; de plus les rayons centraux eux-mêmes étaient auparavant affaiblis par cette réfraction et par la rentrée dans la lentille au sortir de la lame d'air. De là une augmentation de lumière considérable dans le champ.

En second lieu les aberrations étant mieux corrigées les contours et les détails de l'objet sont infiniment plus nets.

Enfin, par suite de la plus grande épaisseur d'un milieu plus réfringent que l'air, composé du milieu dans lequel est plongé l'objet, du verre mince et la lame d'eau, le transport de l'image à l'objet est par conséquent augmenté; la distance seule entre la lentille frontale et l'objet est plus considérable que dans un objectif ordinaire du même grossissement.

On voit que la méthode imaginée par le grand physicien italien peut être considérée par les micrographes comme un bienfait. Les essais d'Amici concernant les systèmes d'objectifs à immersion datent de 1844. Je l'ai vu, cette année-là ou la suivante, montrer chez Oberhæuser un objectif dont il faisait reconnaître les avantages qui viennent d'être indiqués en interposant entre lui et une préparation d'écaillés de *Lepisma*, soit une goutte d'huile de pied de bœuf, soit une goutte d'essence; il les croyait préférables à l'eau dont il recommandait déjà l'emploi comme donnant de bons résultats avec toutes les espèces d'objectifs à distance focale courte. Mais ce n'est qu'à partir de 1855 que M. Nachet et M. Hartnack, successeur d'Oberhæuser ont fabriqué et livré couramment ces objectifs.

257. Ainsi qu'on vient de le voir pour bien comprendre les avantages des objectifs à immersion, il faut se rappeler que la distance focale d'une lentille est due: 1° à la courbure de ses faces; 2° à la valeur de l'indice de réfraction de la substance par rapport à l'air.

en sorte que, si cet indice venait à diminuer, le foyer de la lentille s'éloignerait d'elle, et que si, au contraire, il venait à augmenter, son foyer se rapprocherait. Or, supposons maintenant qu'une lentille biconvexe soit appliquée par une de ses faces sur une lame de verre plane, telle que celle qui recouvre une préparation, et qu'entre les deux, pour remplir le vide qui existera nécessairement, on introduise un peu d'eau: il est clair que les rayons qui pénétreront à travers la lame de verre la traverseront, ainsi que l'eau, sans déviation; ensuite en passant de l'eau dans l'objectif ou la lentille, ils seront réfractés non plus en raison de l'indice de réfraction de la lentille par rapport à l'air, mais en raison de l'indice de réfraction de la lentille par rapport à l'eau. Dans ce cas, par exemple, l'indice de réfraction sera moindre et le foyer de la lentille sera porté plus loin; sa distance focale sera allongée.

Il est facile de comprendre, d'après ce que nous avons dit plus haut que cet effet ne sera pas changé si, comme dans le cas des objectifs des microscopes, la couche de liquide au lieu de former un simple ménisque, représente une couche complète interposée à la lamelle plane de la préparation que ne touche pas l'objectif et à celui-ci; car le liquide ne fait ici que rendre plus épaisse la couche plan-concave de flint dans laquelle est enchâssée la vraie lentille biconvexe de crown de la pièce inférieure de l'objectif.

Ainsi on augmente la distance pouvant exister entre la lentille inférieure et l'objet vu sous un fort objectif, quand on remplace la couche d'air qui sépare habituellement l'objet de la face extérieure de cette dernière lentille, par une couche d'eau dont l'indice de réfraction diffère peu de celui du verre.

258. Les réflexions par la lentille, même sous les très-grandes incidences données par les objectifs à grand angle d'ouverture sont rendues moins sensibles, si on les compare à celles qui se manifestent à l'entrée des rayons de l'air dans le verre; alors la quantité de lumière efficace et concourant à la formation de l'image se trouve considérablement augmentée. Ceci est un avantage réel, équivalant à une amplification de l'angle d'ouverture qui, comme nous l'avons vu (page 185), améliore d'une façon très-notable la netteté de la vision dans le microscope. En outre, ces mêmes rayons, à incidence oblique, ne subissant plus, par la réfraction, qu'une déviation très-faible et, par conséquent, bien plus régulière, ils contribuent mieux à la formation de l'image. En un mot, la lumière abondante qui pénètre dans l'objectif à immersion, sous des con-

ditions de réfraction les plus favorables fait ressortir, avec une extrême précision, des détails que l'on distinguait avec peine en se servant d'objectifs ordinaires.

La clarté de l'image, la pénétration sont les avantages que possèdent les objectifs à immersion et, à ces qualités, il faut ajouter encore, surtout dans l'emploi des plus forts grossissements, la plus grande longueur de la distance existant entre l'objet et la lentille inférieure, ce qui permet d'utiliser des couvre-objets plus épais.

239. Pour se servir des objets à immersion, l'eau doit être limpide. L'eau distillée ne l'emporte sur les autres que parce qu'elle ne contient aucun sel qui puisse, après dessiccation, former un dépôt sur la surface externe de la lentille inférieure, dans le cas où l'on négligerait de l'essuyer pendant qu'elle est encore humide. Il importe d'éviter la formation de cette croûte saline, car elle est quelquefois difficile à enlever et le frottement peut détériorer la surface du verre.

C'est à l'aide d'une petite baguette de verre que l'on dépose une goutte d'eau sur la lentille inférieure de l'objectif, préalablement essuyée avec un linge fin et doux, humecté au besoin avec de l'alcool ou de l'ammoniaque. Cette goutte s'attache facilement au verre et doit le couvrir entièrement, sinon ce serait une preuve qu'il n'est pas suffisamment nettoyé. On fait également tomber une autre goutte sur le couvre-objet bien essuyé; on abaisse lentement le tube du microscope jusqu'à ce que les deux gouttes d'eau se confondent et constituent une couche unique. L'opération est alors terminée et il ne reste plus qu'à mettre au point suivant les procédés ordinaires. On peut, du reste, aussi commencer par mettre l'objectif à peu près au point, puis faire glisser une goutte d'eau entre le couvre-objet et l'objectif pour achever ensuite la mise au point avec la vis micrométrique.

ARTICLE IV. — DE L'ASSOCIATION DES OBJECTIFS ET DES OCULAIRES  
DANS LE BUT D'OBTENIR TEL OU TEL GROSSISSEMENT VOULU.

240. Nous avons déjà vu que, dans les microscopes composés, tout grossissement s'obtient par l'association d'un oculaire à un objectif. Comme les oculaires ont un pouvoir amplifiant variable et peuvent être facilement remplacés l'un par l'autre, on peut, avec un même objectif, obtenir successivement autant de grossissements qu'on a d'oculaires, sans qu'on ait besoin de déranger la préparation. Il est

utile pour les commençants d'examiner ainsi avec tous les oculaires comparativement un même objet sans changer l'objectif.

241. Plus les objectifs ont un pouvoir amplifiant considérable, plus leur longueur focale est courte; plus les lentilles qui les composent sont rapprochées les unes des autres, et moins est considérable par conséquent la distance du foyer à l'objectif, à l'exception toutefois de certaines combinaisons pour les faibles grossissements.

Les objectifs sont désignés, d'après leur grossissement, par des chiffres, 0, 1, 2, 3, etc., ou 1, 2, 3, etc.; mais ces nombres n'indiquent pas la valeur de leur grossissement, qui devra être recherché d'après la méthode indiquée plus loin. Ces chiffres sont, du reste, employés arbitrairement par chaque opticien (voy. le tableau, p. 184). Comme aussi, plus le grossissement est considérable, plus le diamètre de la lentille inférieure de l'objectif est petit, on s'habitue bientôt dans la pratique à juger par là de leur pouvoir grossissant relatif, sans recourir à la vue des chiffres qu'ils portent.

242. Ainsi, un premier moyen de grossir les objets consiste à employer successivement des objectifs de plus en plus forts; avec la précaution d'user en même temps de couvre-objets de plus en plus minces. Il faut même, lorsqu'on pense devoir être obligé de changer de grossissement, se servir de suite des lamelles les plus minces, parce qu'en voulant changer celles qui recouvrent la préparation, cette dernière est souvent détruite ou dérangée. Enfin, lorsqu'on achète de ces lames minces, il faut indiquer aux opticiens le numéro de l'objectif à l'emploi duquel on les destine ou montrer un fragment de ces lamelles comme spécimen de l'épaisseur voulue.

En même temps que diminue la longueur focale et qu'augmente le pouvoir amplifiant de l'objectif, la lumière diminue et la dispersion de la lumière sur les bords de l'objet augmente. C'est, avec l'obligation d'employer les lames de verre trop minces, l'une des raisons qui empêchent de porter le grossissement au delà de certaines limites.

243. Avec chaque objectif on peut obtenir plusieurs grossissements divers, suivant l'oculaire qu'on emploie ainsi que nous l'avons dit. Plus un oculaire est court, plus il grossit, et plus il grossit, plus il fait perdre de la lumière. Les pertes de lumière et de netteté des bords de l'objet, pour un agrandissement donné par les oculaires, sont plus considérables que pour le même grossissement obtenu à l'aide des objectifs. Aussi, quand la nature des re-

cherches le permet, il vaut mieux, obtenir l'agrandissement successif d'un objet à l'aide des objectifs qu'avec les oculaires, malgré l'inconvénient, assez faible du reste, d'employer des verres minces pour le recouvrir.

244. Chaque microscope est accompagné, en général, de trois à six oculaires différents. Leur longueur varie ordinairement entre 2 et 5 centimètres. La perte de lumière et de netteté avec les oculaires de moins de 3 centimètres de long est telle, qu'il ne faut pas s'en servir. On ne peut en user qu'avec les plus faibles jeux de lentilles, et un grossissement égal obtenu en prenant un objectif d'un numéro plus élevé, donne une perte de lumière beaucoup moindre avec des images bien plus nettes. Les oculaires de 3 centimètres de longueur, c'est-à-dire dont le verre supérieur grossit de dix fois environ, ne peuvent déjà plus être employés avec les deux ou trois objectifs les plus forts de la série complète des jeux de lentille que fournissent les opticiens.

En résumé, la pratique démontre qu'il suffit d'avoir trois oculaires dont le plus fort a un grossissement double de celui du plus faible et l'autre est intermédiaire. On se sert en général de celui-ci pour le remplacer par l'un des deux autres, selon qu'on veut, sans déranger un objet, le voir grossi davantage ou moins. Souvent, quand on observe avec des objectifs d'un faible grossissement des animaux ou des organes de petit volume, on les associe à l'oculaire le plus long pour obtenir un grossissement de plus en plus fort, en lui substituant les deux autres. En dehors de ces circonstances qui se rencontrent du reste fréquemment, l'oculaire le plus court ne sert qu'exceptionnellement, surtout avec les objectifs les plus puissants.

245. Il y a un troisième moyen de grossir les objets étudiés au microscope, qui consiste dans l'allongement du corps. On peut constater le fait en soulevant peu à peu l'oculaire, sans le sortir entièrement du tube; on voit alors l'objet d'autant plus grand que l'oculaire est plus élevé.

Plusieurs des microscopes anciens n'avaient pas d'autres moyens de varier les grossissements. Actuellement encore, des fabricants, en Angleterre surtout, font des microscopes dont le tube a plus de 20 à 22 centimètres, et obtiennent ainsi des grossissements plus considérables que les autres avec les mêmes objectifs. Mais, outre l'inconvénient d'être d'un emploi mal commode, à cause de leur élévation, ces instruments ont encore celui d'avoir beaucoup moins de lumière que les autres.

Nous avons déjà parlé plus haut des modèles de microscope à tube rentrant, permettant d'augmenter et de diminuer les grossissements suivant les besoins à l'aide de ce moyen (page 155).

Ainsi, lorsque le corps ou tube du microscope dépasse 20 à 25 centimètres, et que les oculaires ont moins de 3 centimètres de longueur (qui est celle du micromètre oculaire employé, dont le verre supérieur grossit dix fois), la perte de lumière est telle, les images deviennent si peu nettes, qu'il vaut mieux étudier avec des grossissements moindres. Toutefois il faut dire qu'avec des objectifs à immersion parfaits on peut pousser le grossissement par l'éloignement de l'oculaire jusqu'à des limites considérables. Nous avons vu (page 150) que M. Nachet a tiré parti de cette faculté dans son microscope à miroir argenté et à oculaire de grand diamètre.

On se rend facilement compte des causes de l'augmentation du grossissement produite par l'allongement du tube ou corps du microscope, en considérant que plus on éloigne l'oculaire de l'objectif, plus les rayons lumineux que reçoit le verre de champ sont divergents (fig. 47, page 125); par conséquent, plus ils donnent une image étendue. Mais, en même temps, comme l'oculaire ne reçoit que la partie centrale du faisceau lumineux divergent et sur une lentille dont l'étendue ne varie pas, plus celle-ci est éloignée du point d'entre-croisement des rayons lumineux, moins elle reçoit de lumière et plus les bords de l'image obtenue deviennent diffus.

ARTICLE V. — DU POUVOIR AMPLIFIANT DES MICROSCOPES ET DES DIFFÉRENTES MANIÈRES DE LE MESURER.

246. Il est très-important de connaître exactement le pouvoir amplifiant des microscopes avec chaque objectif. En premier lieu, c'est afin de pouvoir indiquer avec quel grossissement on a étudié et figuré tel ou tel détail, et de mettre d'autres observateurs en état de les vérifier. En second lieu, c'est afin de pouvoir répondre exactement à la première question qui est faite quand on montre un objet sous le microscope, celle de savoir quel est le grossissement du système optique employé.

Mais, pour résoudre les problèmes relatifs à cet important sujet, il faut traiter, dès à présent, une question qui touche directement à la manière dont nous voyons les objets sous le microscope.

247. Dans les examens microscopiques, la vision est généralement monoculaire. Elle nous fait percevoir la direction suivant laquelle se

trouve l'image des objets que nous voyons, sur une étendue à deux dimensions seulement ou superficielle, dans un champ de vision ou plan circulaire limité par le diaphragme de l'oculaire; mais, dans la vision à l'aide d'un seul œil, l'accommodation ne donne qu'un secours presque nul pour déterminer la distance à laquelle se trouve cette image sur la ligne de visée. L'image peut être déplacée sur cette ligne sans qu'il se produise dans l'impression reçue par l'œil des modifications autres que celle qui se rapporte à la grandeur du cercle de diffusion formé sur la rétine. Dans le microscope, toutefois, le déplacement dépasse rapidement la longueur de la *ligne d'accommodation* de Czermak, et le cercle de diffusion devient rapidement considérable, mais il est rapidement aussi annulé par la mise au point, qui se fait à volonté. Comme dans toute vision monoculaire, nous ne saisissons donc immédiatement dans le microscope que la ligne de visée sur laquelle il faut chercher à quelle distance est le point occupé par l'image que nous voyons.

La distance effective entre notre œil et l'image est mesurée par la longueur focale du verre supérieur de l'oculaire. La distance effective entre l'œil et l'objet, dont ce verre grossit l'*image réelle*, se mesure facilement, en prenant l'espace qui de la platine s'étend jusqu'à l'œil de l'observateur; elle est de 22 à 25 centimètres environ, en plus ou en moins, selon la nature des objectifs forts ou faibles ajoutés au bas du tube, selon la longueur de celui-ci, etc. Or le fait est que cette image est reportée (suivant une expression reçue), comme cela a lieu pour tout objet vu à l'œil nu, à une certaine distance extérieure à l'œil, sur la ligne de visée; et cette distance n'est ni la longueur focale de la loupe oculaire, ni 22 ou 25 centimètres.

Rappelons que ce *report* de l'image est ici la conséquence de ce que dans l'examen des objets vus à l'œil nu nous avons appris, par une expérience répétée, datant des premières semaines de notre vie extra-utérine, qu'entre l'œil et un corps lumineux placé en face, à droite ou à gauche, nous devons étendre le bras ou marcher pour juger la distance et la troisième dimension de ce corps, c'est-à-dire son épaisseur, et par suite sa consistance, sa température, etc.

En d'autres termes, la notion d'espace, de distance, nous est fournie par l'expérience, et non par une tendance organiquement innée à reporter l'impression au delà du nerf impressionné. Par une induction rapide et involontaire, par suite de l'ancienneté et de l'habituelle répétition des expériences sur lesquelles elle repose, nous concluons à l'existence du corps ou de l'image loin de la ré-

tine, mais sans que jamais ils soient rigoureusement à la distance dite, si on nous force à la formuler en nombres précis. Bien que dans ce fait, dit de *report* ou *extérioration* de l'image, nous ne fassions pas de raisonnement actuellement conscient, nous n'en avons pas moins exécuté (comme dans les cas d'action réflexe en quelque sorte) la série des actes élémentaires du raisonnement, et nous en avons obtenu la conclusion, aussi bien, mais plus rapidement que dans les premiers temps de notre vie; et cette conclusion s'impose à notre esprit à la manière des actes sur lesquels notre volonté n'a pas d'action.

A ces conclusions inductives, formulées comme perceptions visuelles manquant du travail de vérification de la pensée consciente, la justesse absolue manque également tant que n'intervient pas la rectification par le toucher ou par une comparaison faite avec des corps voisins, d'une distance déjà expérimentalement connue. Aussi, dans le cas du microscope, l'image perçue n'étant reportée ni à la distance où est la préparation observée, ni à celle où est le foyer de la loupe oculaire, quand un commençant veut toucher la préparation étudiée sans la regarder directement, il ne met pas les doigts sur elle, mais il les porte en tâtonnant où la perception sus-indiquée lui fait croire qu'elle est. Quelques heures d'expériences analogues à celles de la première enfance suffisent pour lui apprendre où sans y regarder il doit porter la main pour toucher la préparation, et où est son image. Mais l'expérience est à recommencer chaque fois que nous observons avec un microscope dont le pied a une hauteur autre que celle de l'instrument qui nous sert habituellement.

248. Nous pouvons actuellement dire que les procédés indiqués dans les traités de physique, dans les traités sur le microscope et employés par les opticiens, sont au nombre de deux. Tous deux sont fondés sur la propriété qu'a l'œil de reporter à une certaine distance de lui l'image vue à l'aide d'une loupe; et nous savons que tout le microscope se réduit en définitive à une loupe dans laquelle l'objectif et le verre de champ n'ont pour effet que de préparer une image réelle grossie, image qui est simplement regardée et grossie encore sous la loupe que représente le verre oculaire supérieur (voy., p. 125, l'explication de la figure 47).

La distance à laquelle est reportée l'image avec la grandeur qu'elle a pour l'œil qui la voit dans le microscope a jusqu'à présent été supposée gratuitement être celle de la vision distincte; mais cette distance est moindre et varie avec chaque combinaison d'objectif et d'oculaire donnant un grossissement différent.

J'ai montré, en effet, dans la première édition de ce livre (1849) : 1° Que, contrairement à ce qu'indiquent les traités de physique ou du microscope, ce n'est pas à la distance de la vision distincte que l'image des objets est reportée, avec les dimensions qu'on lui voit dans le microscope ou sous la loupe, mais à une distance toujours moindre, variable avec le pouvoir amplifiant; cette distance est d'autant plus grande que le grossissement est plus considérable, et *vice versa* (voy. ci-dessus, page 151, les mesures qui le montrent); 2° Ce point de départ vicieux était cause que, par les procédés indiqués pour prendre le pouvoir amplifiant du microscope, le chiffre obtenu était de cinquante à huit cents fois trop élevé, selon les objectifs, les oculaires ou les procédés employés; 3° En employant un micromètre oculaire dont le verre supérieur grossit exactement dix fois, j'ai été amené à indiquer un autre moyen très-simple d'avoir plus exactement le grossissement réel en diamètre des microscopes (objectif et oculaire réunis, car ni l'un ni l'autre ne peuvent être employés isolément); 4° Le chiffre du grossissement de chaque objectif et l'oculaire micromètre employé pour obtenir ce grossissement, servent à mesurer le diamètre des corpuscules avec chacun des objectifs qu'on utilise.

Le pouvoir amplifiant du microscope sert de la sorte à la mesure du volume des objets étudiés; mais la mesure du pouvoir amplifiant et celle du volume des objets microscopiques constituent deux ordres d'opérations fort différentes. On peut, en effet, déterminer celui-ci sans connaître le premier. On a même su mesurer le diamètre des corpuscules sous le microscope longtemps avant de pouvoir fixer le pouvoir amplifiant de ce dernier.

Ces mensurations exigent l'une et l'autre l'emploi d'instruments particuliers appelés *micromètres* qu'il importe de faire connaître dès à présent.

#### A Des micromètres.

249. On donne le nom de *micromètres* aux instruments destinés à la mesure des images ou des objets de très-petites dimensions dans les lunettes et les microscopes. Les premiers micromètres proprement dits, destinés aux télescopes, furent imaginés par Huyghens (1656), puis par Malvasia, Ausout (1666), etc. Le *micromètre oculaire*, le *micromètre objectif* et le *micromètre à aiguille* sont dus à Benjamin Martin (*New system of Optic*, London, 1740).

250. Tout microscope doit nécessairement être accompagné de

deux micromètres : 1° le *micromètre objectif*; 2° le *micromètre oculaire* ou *oculaire micromètre*. On ne saurait se passer de ces deux instruments; employés ensemble, ils servent à déterminer le pouvoir amplifiant du microscope avec chaque objectif.

251. Le *micromètre objectif* est formé d'une série de petites lignes parallèles très-ténues, tracées sur une plaque de verre à des intervalles parfaitement égaux, par une pointe de diamant. Ces intervalles sont des centièmes de millimètre; de cinq en cinq une des lignes dépasse les autres, et de dix en dix, celles-ci sont dépassées par les divisions principales.

Pour tracer exactement ces divisions, les constructeurs se servent d'une vis micrométrique d'une exécution parfaite, portant un cercle divisé, qui tourne contre un vernier, afin d'avoir exactement les subdivisions du pas de vis, qui est dans un rapport simple et déterminé d'avance avec le millimètre. Ordinairement c'est la plaque elle-même que la vis fait mouvoir en avant, d'un centième de millimètre à la fois, et la pointe du diamant n'a qu'un mouvement transversal à exécuter pour tracer une des petites lignes parallèles. On a fait ainsi des micromètres formés de 1 millimètre divisé en cinq cents et même mille et deux mille parties. C'est à Le Baillif, vers 1820, que l'on doit les principaux perfectionnements apportés à leur construction.

La petite lame de verre sur laquelle est tracé le micromètre est enchâssée dans une plaque de cuivre, et recouverte, ou non, du côté où sont les divisions par une lamelle de verre extrêmement mince, afin de pouvoir placer l'instrument sous tous les objectifs, quelle que soit leur longueur focale. Ces lignes étant très-fines, elles sont ordinairement assez difficiles à trouver et à mettre au foyer; pour en faciliter la recherche, il faut marquer la place du millimètre par un ou deux points d'encre placés sur les côtés. Les divisions se trouvent noyées dans la lumière et ne se voient pas avec les faibles objectifs si l'on emploie toute la lumière que réfléchit le miroir; il faut en conséquence n'en utiliser qu'une petite portion en faisant varier l'inclinaison de celui-ci.

252. Le *micromètre oculaire* est formé d'une plaque de verre portant un centimètre ou un demi-centimètre divisé en cent ou en cinquante parties, c'est-à-dire en dixièmes de millimètre. Cette plaque est fixée au diaphragme de l'oculaire, et comme lui placée exactement au foyer du verre supérieur.

Dans tous les oculaires micromètres qu'on livre encore habi-

tuellement, le pouvoir de cette lentille n'est pas déterminé, ce qui limite beaucoup l'emploi de cet instrument. Comme elle grossit un certain nombre de fois, ce ne sont plus des dixièmes de millimètre qu'on a en permanence dans l'oculaire, mais des fractions de millimètre indéterminées. Ce verre grossissant de six à sept fois environ, autant que j'ai pu le calculer, chaque dixième de millimètre est devenu égal à sept dixièmes de millimètre à peu près. Comme on peut tailler des verres oculaires supérieurs grossissant dix fois, il vaut mieux avoir des micromètres ainsi faits que d'autres, parce qu'on peut comparer exactement les divisions de ce micromètre aux centièmes de millimètre du micromètre objectif, ce qui conduit à connaître le pouvoir amplifiant du microscope, comme nous le verrons plus loin.

255. Quant aux micromètres oculaires à pointes et à ceux qui sont portés par la platine, et aux autres micromètres fondés sur l'emploi des vis, ils doivent être rejetés, à cause des erreurs causées par le *temps perdu* de celles-ci. Ils étaient construits de la manière suivante;

Le micromètre à aiguille et à cadran, de Martin, était composé d'une vis marquant des pas dont on connaissait exactement l'écartement; elle était terminée à l'une de ses extrémités par une aiguille déliée, à l'autre par un indicateur qui parcourait les divisions tracées sur un cadran fixe et donnait la mesure exacte de la progression de la vis. On fixait l'appareil sur l'oculaire en faisant pénétrer l'aiguille déliée qui terminait l'une des extrémités de la vis dans le tube au point même où venait se former l'image de l'objet. En tournant alors la vis, la pointe de l'aiguille traversait l'image, tandis que l'indicateur marquait sur le cadran le point de départ et celui d'arrêt; un calcul fort simple donnait enfin un résultat assez exact.

Fraunhofer a construit sur ce principe un micromètre qui se plaçait sur la platine du microscope, et la vis faisait marcher l'objet préparé; un fil tendu dans l'oculaire servait de point de repère.

#### B. Détermination du pouvoir amplifiant des microscopes par la méthode dite de la chambre claire.

254. Le premier procédé, dû à Amici (1821), consiste à reporter à la distance de la vision distincte, à l'aide d'une chambre claire (fig. 82, *v*, *v*), l'image grossie d'un micromètre objectif sur une

règle divisée en millimètres (*a*), et on note combien chaque centième de millimètre grossi couvre de millimètres; le nombre des millimètres couverts indique combien de fois cent le microscope amplifie.

Au lieu de reporter l'image du micromètre sur une règle ou sur

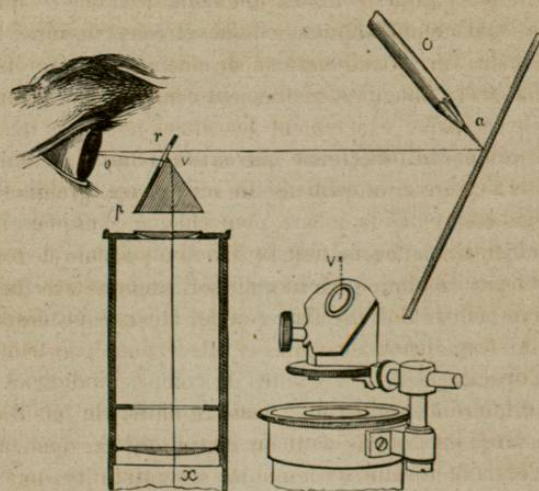


Fig. 82. — Mesure du pouvoir amplifiant avec la chambre claire.

du papier divisés en millimètres, on peut prendre avec un compas, sur un pupitre ou sur la table sur laquelle on a reporté l'image à la distance de la vision distincte, l'écartement de chaque ligne séparant les centièmes de millimètre grossis. On voit ensuite sur une règle à combien de millimètres est devenu égal chaque centième de millimètre; le nombre obtenu indique combien de fois cent l'image est plus grande que l'objet. Jusqu'à présent ce chiffre était, pour les opticiens et beaucoup d'observateurs, le grossissement des combinaisons d'oculaire et objectif employées pour l'obtenir, mais nous avons vu (page 151) qu'il est trop considérable.

255. *Procédé dit de la double-vue.* — L'autre procédé consiste à fixer les divisions du micromètre objectif dans le microscope avec un œil, pendant qu'avec l'autre on regarde (sur une feuille de papier placée à côté du tube du microscope à la distance de la vision distincte), les pointes d'un compas, comme le faisait Hooker (1667) pour mesurer la largeur des corpuscules qu'il étudiait. Observées avec l'œil droit, par exemple, pendant que l'œil gauche fixe l'oculaire

dans le microscope, les images des deux objets différents, peintes séparément dans chacun des yeux, vont se superposer dans la partie des centres nerveux qui est le siège de la perception ; et avec un peu d'habitude, on voit les pointes du compas superposées aux divisions du micromètre objectif.

On peut mesurer alors combien une seule de celles-ci, après avoir été grossie, vaut de millimètres ; ce qui est censé indiquer le pouvoir amplifiant, car si un centième de millimètre est rendu égal à un millimètre, l'image est réellement cent fois plus grande que l'objet.

256. On comprend facilement que si on a fait une table de la grandeur de l'image d'un centième de millimètre, grossi et mesuré à une distance toujours la même, pour chaque combinaison d'oculaire et d'objectif, on pourra obtenir le volume absolu de tout objet placé sous le microscope, pourvu qu'il soit examiné avec la combinaison correspondante des oculaires et des objectifs et mesuré exactement à la même distance.

En effet, l'écartement des pointes du compas, indiquant les dimensions de son image, indique aussi combien de fois il est plus grand ou plus petit qu'un centième de millimètre. C'est là un des moyens d'obtenir le volume des objets examinés au microscope, qui au fond est exact ; mais la difficulté de placer le pupitre ou le plan fixe sur lequel on mesure toujours exactement à la distance où a été faite la table comparative des grossissements le rend sujet à erreur.

257. Quand on se sert de la chambre claire, la nécessité de la fixer ainsi que le pupitre, puis de déterminer la distance de celui-ci à l'œil, entraîne une perte de temps qui, quoique peu de chose, est beaucoup trop en pratique. En effet, la plupart des objets étant susceptibles de se mouvoir dans le champ du microscope, ils ont disparu au moment où l'on est prêt à en mesurer l'image. Souvent aussi, pendant ces préparatifs, un mouvement quelconque dérange le porte-objet ou fait perdre de vue la préparation. Ainsi ce procédé de déterminer le volume des objets ne sera, je crois, jamais employé couramment.

258. Les raisons pour lesquelles le chiffre de la grandeur de l'image de chaque centième de millimètre grossi n'exprime pas exactement combien de fois cent la combinaison optique employée (oculaire et objectif) grossit, mais donne toujours un résultat trop élevé, sont les suivantes.

C'est parce que, comme nous l'avons dit, *l'image perçue n'est pas reportée à la distance de la vision distincte, mais à une distance moindre*, qui, pour moi, qui suis un peu presbyte, et pour mon collègue J. Regnaud qui est un peu myope, est la même. Elle varie entre 14 centimètres  $\frac{1}{5}$  pour l'un des forts objectifs (avec l'oculaire numéro 5) de mon microscope (800 diamètres réels), et 8 à 10 centimètres pour les plus faibles grossissements (25 à 40 diamètres).

Lorsque par exemple, après avoir trouvé que, mesurée avec la chambre claire à la distance de 13 centimètres trois quarts, l'image d'un centième de millimètre (avec mon objectif 5 et l'oculaire 5) égale 4 millimètres, c'est-à-dire égale précisément les dimensions que cette image a quand elle est mesurée directement dans le microscope, on en conclut, avec raison, que cette combinaison optique grossit quatre cents fois. Si l'on vient ensuite à mesurer la même image à 20, 22 ou 25 centimètres, distances adoptées comme celles de la vision distincte, on trouve qu'elle est plus grande des trois quarts au moins que dans le premier cas.

259. Comme la distance de 22 à 25 centimètres est celle qui est adoptée habituellement, on comprendra pourquoi les chiffres donnés par les opticiens sont plus grands des trois quarts environ que le grossissement ne semble l'exiger en fait, quand on observe directement des centièmes de millimètre grossis ; on comprendra aussi pourquoi les dessins exécutés de cette manière dépassent dans les mêmes proportions l'image de l'objet vue directement dans le microscope.

C'est là aussi la raison qui fait qu'on ne doit avoir aucune confiance dans la valeur des chiffres du grossissement indiqué par les tables des catalogues et des livres sur le microscope quand il a été mesuré de cette façon. Toujours ces grossissements sont exagérés de beaucoup et aucun des objectifs donnés comme grossissant cinq cents fois ou mille fois ne montre, avec une largeur de 5 ou 10 millimètres, un corpuscule dont le diamètre est de un centième de millimètre.

D'après ce qui précède, on peut se rendre compte facilement aussi de la raison pourquoi les myopes, qui voient distinctement à une distance qui est de 15 centimètres environ, obtiennent en suivant ce procédé, *dit de la double vue*, un pouvoir amplifiant pour chaque combinaison optique, qui est moindre que celui obtenu par un presbyte. Les myopes obtiennent, en effet, des chiffres qui ne dépassent que de quarante à cinquante fois le grossissement

réal, parce que, ne voyant plus les pointes du compas au delà de 15 centimètres environ, ils rapprochent beaucoup plus le plan sur lequel ils reportent l'image que ne le font les presbytes.

260. Outre la raison capitale qui vient d'être développée, il y en a de plus particulières qui font que les grossissements obtenus par les deux procédés indiqués ci-dessus, non-seulement ne sont pas exacts, mais encore ne sont pas comparables. En effet, lorsqu'un auteur ou un opticien donne le pouvoir amplifiant du microscope, il est rare de trouver indiquée la distance réelle à laquelle l'image a été reportée, ce qui pourtant est indispensable pour donner des résultats susceptibles de comparaison.

Or les uns mesurent à 18 centimètres, d'autres à 20, d'autres enfin à 22 ou 25; toutes distances qui d'un traité à l'autre sont indiquées comme étant celles de la vision distincte. Il en est encore qui prennent pour distance la longueur du corps de l'instrument, ou celle qui sépare l'objet du verre oculaire supérieur, ou même celle qui sépare ce verre de la table sur laquelle repose le microscope.

261. *Valeur de l'angle sous-tendu par l'image des objets.* — Au lieu de chercher à obtenir le pouvoir amplifiant des combinaisons d'objectifs et d'oculaires, et le volume absolu des objets pris à l'aide de la chambre claire, comme il a été dit plus haut, on pourrait se contenter de comparer entre eux les nombres qui indiquent la valeur des angles optiques que sous-tendent ces objets.

On obtient la valeur de l'angle optique sous-tendu par l'image d'un corpuscule grossi par le microscope, en divisant la distance qui sépare l'œil de l'image d'un objet par le diamètre de ce dernier.

Supposons, par conséquent, un intervalle entre deux lignes large de un centième de millimètre placé au foyer de l'objectif et son image reportée au moyen de la chambre claire ou par la double vue. Examinant par le procédé dit de la double vue à une distance de l'œil quelconque, en divisant le chiffre de cette distance par celui du diamètre de l'image du centième grossi, on aura la valeur de l'angle optique sous-tendu dans l'œil par cette image. Si on recule le plan ou le pupitre sur lequel est reportée l'image, comme celle-ci grandit en même temps que la distance et d'une manière proportionnelle, la division de l'une par l'autre donnera toujours le même quotient. Ce chiffre n'exprime ni les dimensions de l'objet, ni le nombre des degrés compris par les côtés de l'angle; il n'a de valeur que d'une manière comparative.

Si maintenant à la combinaison employée on en substitue une

autre, et successivement toutes celles qu'on peut former avec les divers objectifs et oculaires du microscope, on établira une échelle comparative entre les valeurs des angles que sous-tend le même centième de millimètre avec des pouvoirs amplifiants divers. On pourra, par conséquent, dire combien l'un grossit plus que l'autre, sans jamais savoir pourtant de combien le premier grossit d'une manière absolue, non plus que le second par rapport au troisième, etc.

262. Ces chiffres obtenus, si on substitue un objet quelconque au centième de millimètre, on verra combien de fois l'angle que sous-tend son image grossie est plus grande ou plus petite que celui qui est sous-tendu par le centième de millimètre, *vu avec la même combinaison optique*; le chiffre obtenu par la division indique alors le diamètre de l'objet.

263. En donnant le diamètre des objets déterminé par ce procédé, il suffit d'indiquer le chiffre de l'angle sous-tendu par la combinaison employée et de la fraction de millimètre prise pour unité; mais peu importe la distance à laquelle a été reportée l'image, puisque, si on recule le pupitre, l'image grandit en proportion, ce qui laisse à la division le même quotient.

Supposons, par exemple, qu'à la distance de 142<sup>mm</sup>,50, l'image d'un centième de millimètre soit avec une combinaison d'objectif et d'oculaire donnés large de 8 millimètres, on aura  $\frac{142,50}{8,00} = 17,80$ ;

nombre qui exprime la valeur relative de l'angle optique sous-tendu par l'image du centième de millimètre, avec cette combinaison. Si on remplace le micromètre objectif par un objet quelconque dont l'image, à la distance de 215 millimètres, ait 24 millimètres de largeur, on aura  $\frac{215}{24} = 8,87$ . Ce chiffre exprimant la valeur de l'angle

optique sous-tendu par l'image de ce corps relativement à l'angle optique sous-tendu par le centième de millimètre, il faut diviser 17,80 (valeur relative de l'angle sous-tendu par un centième de millimètre), par 8,87, valeur relative de l'angle sous-tendu par l'image d'un corps quelconque, qui est reportée à une distance qui est ici de 215 millimètres. On a ainsi  $\frac{17,80}{8,87} = 2,10$ , c'est-à-dire

que le corps pris pour exemple a une largeur de 2 centièmes de millimètre, plus la fraction un dixième de centième = 0<sup>mm</sup>,0210.



264. Lorsque, par conséquent, on voudra prendre à l'aide de la chambre claire le volume des objets grossis, c'est ce procédé qu'il faudra employer de préférence, après s'être fait une table de la valeur des angles sous-tendus par un centième de millimètre avec chaque combinaison.

Mais il offre, du reste, tous les inconvénients de longueur de temps et de risques de dérangements signalés précédemment (§ 257), quand on emploie la chambre claire dans ce but, de sorte qu'on peut le considérer à peu près comme inexécutable dans les recherches de laboratoire.

C. *Méthode de mensuration à l'aide de l'oculaire micromètre.*

265. Reconnaissant successivement ces différentes causes d'erreurs, j'ai été amené, en 1849, à trouver un procédé destiné à mesurer le pouvoir amplifiant des objectifs, qui est plus rigoureux que les autres, sans l'être pourtant encore autant qu'on pourrait le désirer.

Ce procédé repose sur cette donnée que toute méthode de mensuration du pouvoir amplifiant du microscope ne peut conduire à des nombres exacts que si elle s'appuie sur le principe de la superposition de l'image du millimètre étalon à l'image des divisions différemment grossies qu'on lui compare, et cela sur un point donné de l'axe même du microscope, c'est-à-dire suivant la ligne droite qui passe par le centre des lentilles grossissantes (fig. 47, *mo*, page 125). Cette superposition de l'image des divisions (grossies différemment par chaque jeu de lentilles) du micromètre objectif au micromètre oculaire ou étalon invariable qui détermine l'étendue de l'agrandissement linéaire dans chaque cas, cette superposition, dis-je, doit avoir lieu dans un même plan horizontal; la situation de ce plan est naturellement marquée par le *point de la vision distincte* de l'image agrandie, point qui varie un peu avec chaque œil, mais qui est invariable pour un même observateur (d'un jour au précédent du moins, à l'état normal).

Toute inflexion de cet axe, soit par un miroir ou un prisme réflecteur comme dans la chambre claire (fig. 81, *a, r, x*, page 205), soit par suite du report sur une règle étalon qui fixe l'un des yeux micromètre objectif amplifié que voit l'autre œil (voy. pages 203-204), toute inflexion de ce genre, dis-je, amène en effet dans l'image de l'objet grossi des changements de sa grandeur qui la rendent plus ou moins large qu'elle n'est vue, selon la distance à laquelle est

reportée ainsi cette image, sans que l'étalon varie corrélativement. Il en résulte que le rapport constant cherché entre le millimètre, pris pour étalon, et ses divisions grossies par tel et tel système d'objectifs et d'oculaires successivement, ne peut être établi. Le chiffre qui l'exprime étant celui qui indique le grossissement, il devient parfaitement impossible de donner ce dernier d'une manière exacte, autrement que par hasard, ce qui a tout laissé à l'arbitraire jusqu'à présent.

266. Le procédé que j'ai imaginé pour atteindre l'exacte et nécessaire superposition dont il vient d'être parlé, consiste à faire que les divisions du micromètre étalon, placées au foyer même du verre supérieur de l'oculaire, soient des millimètres. On y parvient en fixant dans un oculaire un verre plan portant cinquante divisions, larges chacune de un dixième de millimètre, au foyer d'une lentille frontale ou supérieure grossissant exactement *dix fois*. On a constamment, de la sorte, dans cet oculaire, des divisions larges d'un millimètre et servant de donnée invariable de comparaison.

On peut se servir alors de ces millimètres comme d'étalon pour mesurer l'image formée au foyer de ce verre, et compter combien chacun d'eux couvre de divisions du micromètre objectif sans courir de chances d'erreurs; car l'image de l'objet et celle du micromètre grossi se trouvent dans l'axe optique de l'instrument, exactement superposées dans un même plan mathématique, au foyer de la même loupe, en sorte que, pour des dimensions égales, elles sous-tendent le même angle sur la rétine.

En conséquence, si l'on place le micromètre objectif sous le microscope et que, regardant avec le micromètre oculaire et tel objectif donné, chaque centième de millimètre du premier est grandi de manière à couvrir trois divisions du second (c'est-à-dire trois dixièmes de millimètre rendus égaux à un millimètre), on dira que le microscope grossit trois cents fois. Il est bien entendu, après ce que nous avons dit plus haut (pages 196-197), que ce même objectif donnerait un chiffre plus élevé s'il était mis au bout d'un microscope à tube plus long, ou *vice versa*, fait important à rappeler pour le cas où il s'agirait d'un instrument à tube pouvant être à volonté allongé ou raccourci.

267. En agissant ainsi, on a le même résultat que l'on obtiendrait en descendant un compas dans l'oculaire sans que les pointes fussent grossies par le verre supérieur, pour mesurer ensuite sur un mètre combien elles embrassent de ses subdivisions en millimètres