

de l'azote libre comme aliment, ~~qui~~ considéré ~~comme~~ nul. Des travaux récents ont renversé cette notion classique et prouvé que les microbes peuvent fixer l'azote de l'atmosphère; de sorte que, si nombre d'entre eux président, avec une activité fâcheuse, au départ, à l'état d'azote gazeux, d'une partie de l'azote organique de la matière vivante, il en est d'autres, heureusement, qui viennent compenser cette action. Bien que le phénomène intéresse avant tout la chimie agricole, il ne saurait être passé complètement sous silence dans cet aperçu biologique.

Tranchée négativement par Boussingault et par beaucoup d'autres chimistes, la question de la fixation de l'azote libre par les plantes a été soulevée de nouveau par Berthelot, dont les expériences ont établi que cette fixation a réellement lieu, principalement dans certains sols, en donnant naissance à des composés organiques complexes de l'ordre des albuminoïdes, tandis qu'elle ne se produit pas dans les mêmes sols stérilisés. Ce savant ayant constaté, en outre, qu'elle est exaltée par certaines plantes, telles que les Légumineuses, la question se trouvait placée sur son véritable terrain. Hellriegel et Wilfarth ont découvert que le phénomène, chez les Légumineuses, se produit avec le concours de certains micro-organismes; dont l'action est corrélative du développement de nodosités sur les racines. Leur méthode, indirecte, était fondée sur l'analyse des sols, des graines et des plantes.

Schlœsing fils et Laurent ont confirmé cette démonstration par la méthode directe, c'est-à-dire par la culture des Légumineuses, en présence d'une atmosphère confinée et le dosage de l'azote gazeux avant et après la culture. Leurs expériences tendent également à montrer que les Bactéries des nodosités ne sont pas les seuls organismes inférieurs capables de fixer directement l'azote gazeux. Effectivement, Winogradsky a réussi dans ces derniers temps à isoler et à cultiver un microbe, voisin par ses caractères des ferments butyriques, qui a la propriété de fixer l'azote gazeux dans un milieu rigoureusement privé d'azote combiné, mais contenant une substance fermentescible, telle que le glucose. Nul doute qu'il existe d'autres microbes doués de la même propriété.

Les microbes des nodosités des Légumineuses ont été cultivés par divers auteurs en milieu artificiel; leur inoculation dans les racines détermine la formation des nodosités. A chaque espèce de Légumineuses correspond presque un organisme spécial, qui lui est adapté pour la symbiose, et en l'absence duquel la jeune plante reste chétive ou meurt. Le parasite pénètre par les poils radicaux; quand la nodosité s'est formée et accrue, il prend des formes bizarres désignées sous le nom de « bactéroïdes », lesquelles meurent ensuite et laissent le parenchyme du tubercule bourré de leurs cadavres. A la période d'invasion et de premier développement du microbe, la plante, ayant épuisé les réserves de sa graine et devant subvenir aux besoins de son hôte, souffre et paraît en état d'inanition: c'est la « faim d'azote ». Une fois la symbiose établie, l'azote nécessaire à la végétation est emprunté directement à l'air du sol

ou de l'atmosphère. Après leur mort, les bactéroïdes, riches en matières albuminoïdes, se détruisent et servent à la nutrition de la plante hôtalière ou à l'enrichissement du sol.

Tels sont les principaux faits qui paraissent actuellement bien établis. Ce qui est encore insuffisamment connu, c'est l'histoire morphologique de ces organismes et surtout le mécanisme qui leur permet de fabriquer de la matière albuminoïde avec l'azote de l'air.

III. — L'espèce en Bactériologie.

La distinction de l'espèce, en histoire naturelle, est d'autant moins facile que les organismes sont plus simples. Les êtres supérieurs présentent, au cours de leur évolution, une succession de formes qui servent de caractères spécifiques, et, souvent, il suffit d'en considérer un petit nombre, parfois même une seule, pour arriver à la détermination. Mais ces formes correspondent à des organes, ou tout au moins à des degrés de différenciation qui s'effacent peu à peu chez les Bactéries; ici, les diversités d'aspect se fondent en une apparence monotone et de moins en moins différenciée, pour se réduire à des variations dans la forme d'une cellule, et, alors même qu'on a suivi le développement tout entier, la simplicité des formes bactériennes rend souvent incertaine la détermination spécifique.

A la difficulté qui provient de la ressemblance extérieure offerte par des espèces différentes, vient encore s'ajouter la variation fréquente des caractères morphologiques sous l'influence des milieux; de sorte qu'aucun caractère, pris isolément, ne peut servir de base à une distinction rigoureuse. Il faut donc s'adresser en même temps aux propriétés biologiques, sans oublier qu'elles-mêmes manquent de stabilité. Les agents virulents, par exemple, s'atténuent par l'action de la chaleur, de l'air, de la lumière, du milieu nutritif, etc., et, sans changer de caractères morphologiques, un même microbe peut ne plus jouir des mêmes propriétés.

Ces variations morphologiques et physiologiques ont été, en partie, la cause de la négation de l'espèce chez les Bactéries. Toutefois, on n'a pas tardé à faire justice des théories d'après lesquelles quelques espèces seulement, ou même une seule espèce, pourraient revêtir, en des métamorphoses successives, les aspects les plus imprévus et les fonctions les plus diverses. La Mycologie, elle aussi, a passé par une phase où florissaient de semblables idées, que le polymorphisme normal de divers Champignons avait contribué à faire surgir. Les organismes plus élevés, qui se prêtent mieux au contrôle et sont plus faciles à suivre, ne montrent aucun exemple de ce transformisme à outrance. Il en est de même chez les Bactéries, et la fixité relative de l'espèce reste une loi générale.

Assurément, la forme extérieure peut varier chez les organismes comme elle varie chez les autres végétaux ; mais cette variabilité ne comporte pas une interprétation différente. On remarque trop souvent, il faut bien le dire, une tendance exagérée à considérer les Bactéries comme des êtres à part, et, trop souvent aussi, on oublie les principes de méthode qui doivent présider à leur étude.

Avant d'examiner jusqu'à quel point la variabilité se manifeste chez ces micro-organismes, il n'est pas superflu de citer quelques faits qui préciseront la notion du polymorphisme chez les Végétaux.

Pour prendre un exemple banal, une plante supérieure, chez laquelle les mêmes formes reviennent avec des variations sans importance, appartient à une espèce *uniforme*. Si peu qu'on ait l'habitude de l'observation scientifique, on la distinguera facilement, même en ne connaissant qu'une de ces formes. Une feuille de Marronnier d'Inde, par exemple, suffit à faire reconnaître l'arbre dont elle provient.

La plupart des plantes et des animaux supérieurs appartiennent à des espèces uniformes, et, bien qu'ils passent de l'œuf à l'état adulte par une série de formes différentes, on les considère néanmoins comme *constants de forme*. Ce qu'il faut envisager, en effet, c'est la constance du développement, abstraction faite des variations individuelles peu importantes.

Telle autre plante pourra présenter, dans des organes de même nom appartenant à un même individu, des formes différentes dont la cause interne échappe à toute analyse : c'est le cas du Mûrier à papier, qui porte sur une même branche des feuilles qui sont les unes cordiformes, les autres plus ou moins profondément découpées en lobes. Il est évident que ces deux sortes de feuilles sont nécessaires pour faire reconnaître l'espèce, qui se trouve être *polymorphe*. Certains Acacias australiens (*A. heterophylla*, etc.) ont souvent aussi deux sortes de feuilles sur les mêmes rameaux : les unes sont composées-bipennées, avec nombreuses folioles ; les autres consistent en une simple lame ou phyllode, formée par l'aplatissement du pétiole principal. Entre ces deux formes extrêmes, il y a tous les intermédiaires. Les différences de cette nature sont souvent une question d'âge, et chez l'*Eucalyptus globulus*, par exemple, les jeunes individus ont des feuilles cordiformes, sessiles, opposées et horizontales, tandis que, sur les sujets adultes, ces organes sont en majeure partie lancéolés, acuminés, falciformes, alternes, à plan se rapprochant plus ou moins de la verticale.

Si le système végétatif, au lieu de comprendre des organes distincts, comme dans les exemples précédents, est simplement formé par un thalle ou une fronde, comme chez les Algues, il pourra également se montrer polymorphe. Il y a, dans ce groupe de plantes, des espèces marines (*Halymenia ligulata*, etc.), dont les représentants ont leur fronde tantôt entière et continue, tantôt découpée en lanières plus ou moins étroites.

On serait tenté, au premier abord, de rapporter à des espèces distinctes ces individus différents ; mais, malgré le polymorphisme du système végétatif, l'examen de la structure du thalle et les caractères des organes reproducteurs permettent facilement de reconnaître l'espèce à laquelle ils appartiennent.

Beaucoup d'Algues vertes et de Champignons sont polymorphes à un très haut degré, à la fois dans leurs organes végétatifs et dans leurs organes reproducteurs. Il suffit de mentionner, parmi les Champignons, le *Claviceps purpurea*, auquel appartient l'ergot de seigle, dont les divers états de développement sont connus de tout le monde.

Il est facile de remarquer aussi que, tantôt le polymorphisme se manifeste au cours du développement, sans que les conditions extérieures paraissent changer ; tantôt c'est la différence du milieu ou du substratum qui en provoque l'apparition, auquel cas à chaque milieu correspond une forme spéciale, qui peut se maintenir et se reproduire d'une façon indépendante en conservant ses caractères propres, jusqu'à ce que l'observation ou l'expérience vienne révéler ses affinités avec d'autres formes de la même espèce. Il en résulte que beaucoup de formes que l'on rencontre à l'état isolé, chez les Champignons inférieurs surtout, et que l'on considère provisoirement comme des espèces, ne représentent probablement qu'un anneau détaché d'une chaîne dont l'ensemble constitue l'espèce.

Il arrive aussi que certaines plantes inférieures présentent accidentellement ou partiellement des états semblables à ceux qui servent à distinguer divers genres ; mais il ne s'ensuit pas, pour cela, que ces genres n'existent pas. Beaucoup d'Algues différentes peuvent se résoudre en cellules isolées ; elles ressemblent alors à des *Protococcus*, si elles sont pulvérulentes, à des *Palmella*, *Glæocapsa*, etc., si elles sont entourées d'un mucilage plus ou moins ferme. Mais, dans un cas, l'état pulvérulent ou palmelloïde est permanent, il n'est que transitoire dans l'autre. Chez les Algues bleues ou Cyanophycées, les *Lyngbya* et les Oscillaires présentent, comme forme normale, des filaments rectilignes ; mais ceux-ci sont parfois mélangés à des filaments plus ou moins ondulés ou spiralés sur tout ou partie de leur longueur ; ces derniers ne représentent qu'une forme accidentelle. Au contraire, les *Arthrospira* et les *Spirulina* sont constitués par des filaments régulièrement spiralés, parmi lesquels il n'y a jamais de filaments rectilignes. Malgré l'existence de formes spiralées chez les *Lyngbya* et les Oscillaires, la valeur des deux derniers genres ne saurait être contestée. Ces exemples montrent assez combien il importe de connaître et de suivre tous les stades du développement.

Dans des cas relativement simples, les modifications provoquées par le milieu sont faciles à suivre. Le *Mucor racemosus*, par exemple, végétant à l'air libre à la surface d'un liquide sucré, développe un mycélium ramifié dont les caractères, joints à ceux de l'appareil sporifère, permettent de distinguer l'espèce. Par contre, s'il est plus ou moins privé d'oxygène et

submergé, il découpe son mycélium en articles, qui bientôt s'isolent et bourgeonnent à la façon de la levure de bière, en faisant fermenter le glucose et le sucre interverti. Cette forme levure peut se produire avec d'autres moisissures sous l'influence de conditions analogues. Mais, qu'on vienne à faire cesser ces conditions, et le champignon reprendra ses caractères morphologiques et biologiques ordinaires. Toutefois, si la filiation des formes est ici facile à saisir, il est des cas où, par suite d'une adaptation progressive au milieu, la variation est plus rebelle à ce retour au type spécifique.

Des faits du même genre se rencontrent dans le monde des microbes, où le polymorphisme a donné lieu à une discussion dont nous devons rappeler maintenant les principales phases.

F. Cohn avait fondé sa classification sur l'extrême simplicité des formes bactériennes, sur un monomorphisme relativement constant. Les formes végétatives lui servaient à distinguer les genres (*Micrococcus*, *Bacterium*, *Bacillus*, *Spirillum*, etc.). Mais, il faut bien le dire, car on a trop souvent méconnu l'idée directrice de cette classification, l'auteur avait simplement voulu donner un classement provisoire et il avait expressément laissé de côté la question de savoir si les genres et les « espèces d'après la forme » correspondent réellement aux genres et aux espèces qu'on observe dans la Nature.

On sait comment, en opposition avec les idées de F. Cohn, Nägeli et d'autres observateurs ont mis en doute l'existence d'espèces distinctes chez les Bactéries, en prétendant que les formes observées proviennent les unes des autres par des variations successives et que, chose plus grave encore, la fonction physiologique est également variable, les mêmes formes pouvant provoquer toutes les fermentations et les maladies infectieuses. Déjà, les expériences de Pasteur étaient en contradiction formelle avec une semblable théorie. On ne tarda pas à reconnaître qu'il existe des unités biologiques auxquelles on doit attribuer le caractère d'espèces, et les Bactéries les plus soigneusement étudiées se montrèrent relativement uniformes.

Toutefois, il parut bientôt nécessaire d'apporter des modifications au système de Cohn. Tout en admettant la possibilité de fonder des espèces en prenant pour base les caractères morphologiques, Zopf s'attaqua à la délimitation des genres de la classification de cet auteur et à la constance des formes bactériennes. Ayant observé, dans quelques espèces, des stades de développement rappelant les formes caractéristiques des divers genres de Cohn, il en conclut que ces genres ne sont que des stades, des formes de la végétation d'espèces polymorphes.

En réalité, Zopf n'avait vu ce polymorphisme que dans quelques Bactéries relativement élevées en organisation, les *Beggiatoa* et les *Cladithrix*; ce qui ne l'empêcha pas de généraliser et d'affirmer que « la théorie de la constance des formes bactériennes n'avait plus qu'un intérêt

historique ». Pour cet auteur, ce qui n'avait pas paru polymorphe était « insuffisamment connu », et il se réservait de faire connaître ultérieurement « les conditions chimiques exactes de tous ces phénomènes morphologiques ».

Acceptés d'abord avec confiance par nombre d'auteurs et vulgarisés par l'enseignement, ces résultats furent presque aussitôt étendus par quelques-uns à des Algues bleues voisines des *Beggiatoa*, les Oscillariées. Toutefois, l'assentiment ne fut pas absolument général; un algologue des plus éminents, E. Bornet, pensa qu'il était d'autant plus prudent de faire les réserves qu'un simple coup d'œil sur les planches de Zopf, représentant des Algues d'organisation plus complexe et de dimension plus grandes que les Bactéries, montre que l'auteur a commis des confusions inexplicables. Partout il a représenté des états juxtaposés de formes plus ou moins analogues d'étres différents, et nulle part la continuité de ces formes sur un même individu. Certains caractères, tels que la couleur de la gaine chez les Cyanophycées, qui sont importants à considérer pour la distinction des genres, ont été entièrement négligés par cet auteur: « Il n'est peut-être pas inutile de faire remarquer, disent Bornet et Flabaut, que ni Zopf, ni Hansgirg ne tiennent compte de la fixité de la couleur des gaines, lorsqu'ils rattachent les unes aux autres des formes diversement colorées. »

Plus tard, dans une remarquable monographie des Oscillariées, Gomont s'exprimait en ces termes, au sujet du polymorphisme de ces Algues: « Nous ne chercherons pas à réfuter en détail une théorie qui nous paraît reposer surtout sur un vice de raisonnement, la filiation supposée des formes étant déduite de leur concomitance ou de leur succession dans un même milieu, et non de l'observation directe. Les cultures auxquelles nous nous sommes livré dans des milieux convenablement stérilisés, et qui nous ont permis plus d'une fois de propager et de conserver à l'état de pureté, pendant plusieurs mois, une forme unique, en faisant varier à diverses reprises les conditions d'existence, n'ont jamais produit dans les plantes en expérience aucun changement qui puisse fournir un argument quelconque en faveur des théories polymorphistes. »

Cependant, comme on attendait toujours les preuves annoncées par Zopf, dont les cultures avaient été faites dans « l'eau de marais fraîche », Winogradsky reprit cette étude sur les organismes mêmes signalés comme les plus polymorphes. Il établit que les deux prétendues espèces de *Beggiatoa* (*B. alba* et *B. roseo-persicina*) sont en réalité deux groupes d'organismes qui comprennent, l'un les Sulfobactéries incolores, l'autre les Sulfobactéries rouges, embrassant au total plus de 20 espèces. Dans le premier groupe, par exemple, les espèces les plus polymorphes, appelées aujourd'hui *Thiothrix*, sont constituées par des filaments pourvus d'une gaine gélatineuse, fixés à la base, rigides et immobiles; ils se divisent à leur extrémité libre en une série de tronçons qui sortent de la gaine, se détachent et s'éloignent en rampant, pour se fixer ensuite par un bout et

s'accroître en un nouveau filament. Ce mode de multiplication les rapproche des Oscillariées. Avec cette espèce, comme avec les autres Sulfobactéries, la végétation ne se fait bien que dans une eau sulfureuse : tous les milieux différents essayés par Winogradsky n'ont rien montré de plus ou arrêtaient la végétation.

L'un des exemples de polymorphisme qui semblait le plus digne de foi, celui des *Beggiatoa*, se trouvant ainsi ramené à un exemple de confusion d'espèces autonomes, il restait à examiner le *Cladothrix dichotoma*, réputé aussi comme polymorphe au plus haut degré. En effet, Zopf admettait qu'il pouvait revêtir successivement la forme de filaments droits et spiralés, se fragmentant en bâtonnets, en vibrions, en arthrospores, tous capables de se mouvoir et de s'agglomérer en zoogléées ; il y aurait, en plus, à l'intérieur des filaments, formation d'endospores et de microcoques. Or, en cultivant longtemps cette plante sous le microscope, Winogradsky n'a pu voir que la formation de bâtonnets mobiles, analogues à ceux de la Sulfobactérie mentionnée plus haut, et la production de cocci analogues aux arthrospores. Quant à la formation zoogléique, elle est commune, comme on sait, à beaucoup de Bactéries. Les formes spiralées, qu'on peut d'ailleurs rencontrer, comme on l'a vu, chez des espèces d'Oscillariées normalement filamenteuses, et les formes de vibron figurées par Zopf et par d'autres, résultent simplement d'une ondulation, que Büsgen considère même comme accidentelle et qu'il attribue au défaut d'oxygène. Ce dernier observateur, qui a fait récemment des cultures pures de *Cladothrix* sur gélatine nutritive, croit pouvoir dire que les arthrospores des auteurs précédents ne sont, en réalité, que des éléments très courts ; quant aux endospores et aux microcoques, ce seraient tout simplement des globules de matière grasse ! Le polymorphisme du *Cladothrix* est donc tout aussi limité que celui des *Beggiatoa* ; les théories de Zopf ne reposaient que sur des erreurs d'observation.

Est-ce à dire que, chez toutes les Bactéries, le cycle du développement n'offrira pas de variations plus étendues que dans les cas précédents, où il avait semblé pourtant si compliqué ? Ce serait aller trop loin. D'ailleurs, la question se présente sous deux aspects différents, suivant qu'il s'agit des variations que l'on peut obtenir expérimentalement, ou de celles qui se présentent au cours du développement normal.

Il n'est guère de bactériologistes qui n'aient eu l'occasion de remarquer, dans des cultures absolument pures, des changements de forme dont la cause a paru souvent assez obscure. Mais on sait que la composition des milieux change avec l'âge, avec les conditions de la culture ; il n'y a donc rien d'étonnant à ce que ces changements retentissent sur les caractères des microbes, qui ne sont pas plus insensibles que les Champignons à l'influence des conditions extérieures. Schottelius, Wasserzug, Roger ont vu que le *Micrococcus prodigiosus*, qui doit plutôt être considéré comme un bacille, peut s'allonger en filaments plus ou moins longs et se renfler

sous l'influence d'une température de 57 degrés, ou d'une réaction acide du milieu de culture, ou encore de divers agents chimiques. Røser a observé un bacille de l'eau qui présentait quelques-uns des caractères du Bacille typhique, mais qui se changeait, quand on élevait la température, en filaments d'une longueur démesurée.

En cultivant dans les mêmes conditions les formes modifiées du *Micrococcus prodigiosus* et du *Bacillus pyocyaneus*, Wasserzug a pensé qu'on arriverait à les fixer définitivement et, par suite, à réaliser un véritable transformisme ; mais cette fixation d'une forme nouvelle reste encore à obtenir. Avant lui, Guignard et Charrin avaient montré que le Bacille pyocyaneus, en présence de divers composés chimiques, peut revêtir presque toutes les formes connues chez les divers microbes ; mais ils avaient eu soin de faire remarquer que l'une quelconque d'entre elles, replacée dans les conditions normales, reproduit toujours la forme typique ordinaire du Bacille, et ils ajoutaient que si le polymorphisme « doit attirer de plus en plus l'attention sur l'influence des milieux, et en particulier des antiseptiques, et mettre en garde contre certaines tendances à multiplier les espèces en se fondant sur des données morphologiques insuffisantes », « au point de vue botanique, il n'ébranle en rien la notion généralement admise pour l'espèce ». Il ne s'agit donc pas de transformisme, mais d'une variation d'origine expérimentale, obtenue dans des conditions que l'on doit considérer comme anormales.

Intéressantes à connaître parce qu'elles montrent que l'espèce microbienne est beaucoup plus plastique qu'on ne l'avait cru jusque-là, ces variations ne peuvent être invoquées contre la constance du développement des espèces bactériennes. Winogradsky a insisté avec raison sur ce point. La considération des formes n'est valable que quand l'espèce se trouve dans des conditions favorables à son existence. Dans de mauvaises conditions, sous des influences délétères, s'il n'y a pas arrêt de végétation ou formation de spores, il y a végétation pénible accompagnée de phénomènes morbides, qui se traduisent souvent par des formes involutives. On ne peut les mettre sur le même rang que les phénomènes normaux, et ils ne sauraient, au point de vue botanique, faire qualifier de variables les espèces qui les subissent.

Toutefois, si, dans les exemples qui précèdent, les nouveaux caractères morphologiques obtenus expérimentalement n'ont pu se maintenir lorsque le microbe se trouvait replacé dans des conditions normales, il semble aujourd'hui qu'il existe des cas où ces caractères peuvent offrir une constance relativement grande. C'est ce qui résulte des récentes observations de Metchnikoff sur divers bacilles du choléra.

En étudiant des vibrions cholériques d'origine différente, ce savant a constaté que les uns présentent la forme de virgules courtes, les autres celle de bâtonnets ou filaments courts. Maintenu pendant un mois et demi dans l'eau peptonisée, à la température de 36°, un bacille de la première forme a pris la seconde, et celle-ci s'est reproduite sur divers