

Celles-ci au lieu d'être des corpuscules ovales présentant des vacuoles et des granulations peu marquées, libres ou disposés par couples, étaient sphériques, dépourvues de vacuoles, fortement nucléées et disposées en groupes nombreux et irréguliers. L'écume de ce verre conserva les mêmes caractères, tout le temps que nous le fîmes en observation (15 jours); cet organisme avait donc bien complètement pris l'aspect d'une *Torula* sphérique.

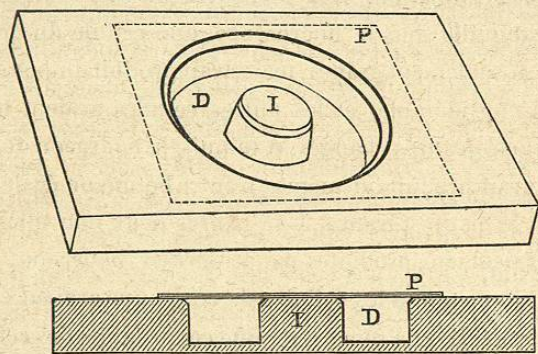
Mais, pourrait-on me demander, n'étais-je pas le jouet d'une illusion en pensant que la nouvelle forme toruloïde dans le second verre inoculé avait quelque rapport avec l'oïdium? N'était-ce pas que quelque espèce toute différente, accidentellement présente, comme l'oïdium, lui-même s'était trouvé par hasard dans le verre à levure? — Que toutes les cellules ovales eussent disparu en 24 heures et cédé la place à d'autres cellules produisant une écume exactement semblable à l'œil nu, c'était chose peu probable; mais, d'un autre côté, la différence des cellules était si prononcée que si nous étions en présence d'une simple modification du même organisme, il était désirable, si possible, de placer le fait hors de doute. Dans ce but, le 30 août, je mêlai un peu de cette écume, prise à l'aide d'une baguette de verre « chauffée » avec une goutte de solution de Pasteur (1) sur une lame de verre « chauffée » et je recouvris le mélange d'une mince lamelle couvre objet, « chauffée »; sur cette dernière, je plaçai une autre lamelle fine également « chauffée » mais grande au point de dépasser la précédente dans tous les sens et je la lutai par ses bords au porte-objet, à l'aide de paraffine fondue que j'appliquai avec une plume

(1) Cette solution de Pasteur renfermait 1/100 d'alcool pour des raisons dont je ne veux pas charger la mémoire du lecteur.

d'acier chaude. Le but de cette disposition était d'empêcher l'évaporation par le lut de paraffine tandis que les intervalles entre les deux minces lamelles devaient renfermer une petite provision d'air pour permettre la végétation de l'organisme. Je choisis alors comme point d'observation, un groupe de cellules rondes placé près des bords du liquide et, par conséquent, voisin de l'air enfermé entre les lamelles, et j'en pris le dessin de la camera lucida. C'était à 5-50 heures du soir; à 6-8 heures je notai dans les nucléoles des cellules un certain changement que j'ai souvent observé dans les spores avant la germination, et à 11 heures du soir (l'objet était resté tranquille sous le microscope) une cellule du groupe avait non-seulement grandi, mais avait produit un bourgeon allongé considérable, et les autres cellules avaient toutes leurs nucléoles très changés. A minuit, le bourgeon de cette cellule avait produit lui-même un autre bourgeon également ovale et le matin suivant à 7-45 heures deux nouvelles cellules avaient été produites par le dernier bourgeon. Plusieurs, sinon toutes les cellules de ce groupe avaient également germé. Il est à remarquer que ces produits des cellules de l'écume, n'étaient pas comme elles sphériques et nucléées, mais présentaient l'aspect ovale et vacuolé des cellules de la première écume, de sorte que l'identité d'espèce des deux formes de végétation n'était plus douteuse.

Je parvins dans la suite à démontrer ce point d'une façon plus évidente encore. Les bourgeons allongés que j'avais observés dans l'écume du second verre à urine, peu d'heures après l'inoculation, semblaient indiquer que le même liquide qui, altéré par la fermentation, occasionnait la transformation toruloïde de l'organisme, pouvait, à l'état frais, favoriser son retour à la forme fibrillaire. Je résolus donc de

surveiller, si j'y pouvais parvenir, la toute première végétation des cellules sphériques de l'écume dans de l'urine fraîche et pure. Je procédai d'après le même principe que précédemment; mais ayant appris par expérience que la petite couche d'air comprise entre les lamelles, se laissait épuiser en peu de temps, j'essayai un autre appareil destiné à me fournir plus d'air et voici la forme à laquelle je finis par m'arrêter. On prend une plaque de verre épaisse de $\frac{3}{8}$ de pouce environ et longue et large respectivement de $2\frac{1}{2}$ et $1\frac{1}{2}$ pouces. On y fait creuser par le lapidaire un fossé



circulaire D autour d'une île centrale I. Cette île a un diamètre de $\frac{3}{8}$ de pouce, le fossé ou chambre à air possède une largeur équivalente, et une profondeur telle que le permet l'épaisseur de la plaque de verre soit $\frac{1}{4}$ de pouce. Une lamelle couvre-objet P, mince et assez grande pour recouvrir l'île et le fossé circulaire, mais plus petite que la plaque de verre à laquelle elle doit pouvoir être collée à l'aide de paraffine, vient compléter le « jardin de verre » (1)

(1) Ces « jardins de verre » peuvent se trouver chez Sanderson lapidaire, 92, Princes street, Edinburgh.

que l'on garnit de la façon suivante : Il faut d'abord chauffer puis laisser refroidir les verres sans permettre l'entrée de poussière dans la chambre à air. La plaque de verre avec lamelle couvre-objet *in situ*, recouverte elle-même d'une lamelle un peu plus grande, est placée sur une large plaque de métal en position stable et l'on met au-dessus un couvercle de métal, par exemple, celui d'une boîte à biscuits en étain. Alors à l'aide d'un bec de Bunsen ou d'une grande lampe à alcool, on chauffe la plaque métallique jusqu'à ce que une goutte d'eau épanchée sur le couvercle d'étain, passe immédiatement à l'ébullition. On retire alors la lampe et l'on permet le refroidissement complet. La plaque et le couvercle métallique ont pour objet de répandre uniformément la chaleur et d'empêcher ainsi le verre épais et irrégulièrement creusé d'éclater. Le couvercle contribue à exclure la poussière durant le refroidissement, ce que font aussi la lamelle couvre-objet et la lamelle immédiatement supérieure plus grande. Cette dernière rend encore service dans le chargement du « jardin de verre »; à cet effet, on la soulève et on la renverse sur la table de manière à ce que celle de ses faces qui était inférieure pendant le refroidissement et qui, par suite, était exempte de poussière, devienne supérieure. Alors, à l'aide d'une pipette « chauffée », on y dépose quelques gouttes du liquide nouveau où l'on veut opérer la culture et l'on y ajoute un peu de la végétation à l'étude que l'on y disperse intimement en agitant avec une baguette de verre « chauffée ». En ce moment, on soulève la lamelle couvre-objet avec une pince « chauffée », en s'aidant d'une aiguille « chauffée », et l'on place à l'aide de la pipette une gouttelette du mélange de milieu liquide et d'organismes sur l'île centrale du jardin

de verre, et, pour assurer une atmosphère humide dans la chambre à air, on laisse tomber d'une pipette « chauffée » dans le fossé, une goutte d'eau bouillie puis refroidie à l'abri de la poussière aérienne (1). On remet ensuite soigneusement en place la lamelle couvre-objet que l'on a maintenue toujours dans la pince purifiée, et l'on en soude les bords à l'aide de paraffine. Celle-ci est aisément fondue dans une cuiller à café, et on l'applique à l'aide d'une plume d'acier passée de temps en temps dans la flamme de la lampe à alcool. La chose est délicate, exige une manipulation prompte et une vigilance constante; mais à ces conditions, on en tire les résultats les plus satisfaisants. Il m'est arrivé de suivre, durant plusieurs semaines, un seul et même organisme croissant sans mélange d'aucun autre, dans un tel jardin de verre que j'avais même emporté avec moi en voyage pendant les vacances d'automne.

Dès que le « jardin » est ensemencé, on le place au microscope, et l'on dessine à la camera lucida quelques spécimens d'organismes. — On fait également un dessin à grossissement plus faible afin de pouvoir retrouver aisément les objets dessinés.

Le 11 septembre, je chargeai un jardin semblable avec un peu d'écume empruntée au second verre à urine, mêlée

(1) L'ordre à suivre est le suivant : introduire d'abord la goutte d'eau dans la chambre à air, puis employer la même pipette *propre* pour le milieu à végétation. J'ai trouvé que la meilleure pipette pour ces recherches est une petite seringue dont le bout est réuni à l'aide d'un petit manchon de caoutchouc, à un tube de verre étroit et mince qui se laisse instantanément chauffer presque jusqu'au rouge en passant par une flamme et se refroidit avec une rapidité correspondante. Ce tube est fléchi à angle droit vers son milieu de sorte que ni la main, ni la seringue ne restent suspendus au-dessus du champ expérimental. D'un autre côté la nature élastique du caoutchouc permet de presser le petit tube de verre sans risque de bris, contre tout objet, par exemple la paroi d'un verre à vin dont on veut enlever des organismes.

d'urine pure prise à l'un des verres préparés le 10 août et dont le contenu avait conservé sa transparence et son bouquet initiaux. Les cellules ainsi introduites entre l'ile et la lamelle couvre-objet avaient toutes le caractère sphérique; j'en dessinai des groupes quelques minutes après le chargement à 7-20 du soir. A 9-50 h., les noyaux étaient devenus plus visibles et changés de place, mais les cellules n'avaient point changé de forme. Le lendemain de bonne heure, je trouvai que toutes les cellules en général bourgeonnaient; mais celles que j'avais dessinées, avaient un peu changé de place, de sorte que je ne pus plus les distinguer dans leur forme altérée de leurs voisines. Je choisis deux groupes pour observation ultérieure et je les dessinai respectivement à 1-30 et 1-35 h. de la nuit. Il est à remarquer qu'au temps où les premiers phénomènes de germination les avaient fait passer de la forme sphérique à la forme ovale, les cellules conservaient toujours leur caractère nucléolé. Cinq heures après, dans les deux groupes, la croissance avait avancé rapidement, les nucléoles avaient presque disparu et les bourgeons s'étaient beaucoup allongés. L'un de ces groupes comprenait d'abord trois cellules : l'une d'elles avait produit maintenant un filament assez court, une autre avait produit deux cellules ovales à vacuoles et la troisième après être devenue ovale procédait au développement d'un filament court.

Après 4 heures encore, j'eus la joie de voir l'expérience couronnée d'un plein succès. Les deux jets dont nous avons parlé, avaient acquis une longueur considérable, tandis que la progéniture de l'autre cellule était représentée par des paires de corpuscules ovales à vacuoles et dépourvus de nucléoles, exactement semblables aux éléments de la pre-

mière écume ou du dépôt granuleux qui accompagnait les touffes fibrillaires du premier verre à urine. Dans ce verre à une période initiale certains éléments affectaient la végétation filamenteuse, et d'autres la forme corpusculaire; il en était exactement de même pour les produits des trois cellules dont nous avons suivi le développement.

Tel fut l'effet de l'urine pure sur cet organisme. Dans la suite, toutefois, à mesure que sous l'influence zymique du champignon le milieu liquide s'altéra, la végétation filamenteuse qui s'était montrée d'abord, fit place à la forme corpusculaire, transformation que le jardin de verre me fournit l'opportunité de suivre avec la plus parfaite précision. A 5-50 du soir, le même jour, l'un des filaments que nous avons suivis et qui s'était considérablement allongé, montrait déjà une tendance à se diviser en segments, et ça et là, sur son trajet, il avait produit des corpuscules ovales. Dix heures plus tard encore, c'est-à-dire le 13 septembre à 3-50 h. du matin, le filament n'avait que peu gagné en longueur, mais son extrémité s'était rompue en segments et s'était disposée en zig-zag, et une foule de corpuscules s'étaient produits le long de son trajet, d'un côté, par bourgeons nés des segments, de l'autre par pullulation des corpuscules eux-mêmes dont beaucoup avaient déjà la forme sphérique. Les cellules sphériques, vues à un fort grossissement étaient nucléées comme celles de la dernière écume. Ça et là, je trouvai encore des plantes, que je suppose avoir été plus vigoureuses, chez lesquelles la végétation fibrillaire avait été poussée plus loin avant le développement des corpuscules, et qui offraient des rameaux cloisonnés exactement semblables à la forme fibrillaire originale de l'organisme. J'en vis entre autres un bel exemple dans une

plante qui présentait d'une part une fibrille cloisonnée excessivement fine, tandis que dans sa portion la plus épaisse, elle fournissait directement des cellules sphériques montées sur de petits pétioles.

Le jour après, je trouvai un spécimen bien fait pour mettre en lumière tout le sujet. Cette plante avait germé d'une spore située près des bords de l'île et avait grandi vers la chambre à air; arrivée là, elle avait continué à se répandre à la face inférieure de la lamelle couvre-objet qui formait le plafond de la chambre à air. La partie de cette plante la plus éloignée de la chambre à air avait pris la forme en zig-zag par suite de sa tendance à se diviser en segments et avait produit un nombre considérable de spores sphériques. Plus près de l'air, la plante conservait sa forme originale et avait peu de conidies, tandis que dans la chambre à air, il n'y avait plus qu'un fungus ramifié, fibrillaire, complètement dépourvu de productions conidiales, et cela dans une partie de cette même plante qui montrait ailleurs des articles presque détachés et des spores sphériques.

Mais comment fallait-il expliquer les différences que montrait la plante dans ses parties constituantes? Pourquoi la portion comprise dans la chambre à air conservait-elle sa forme purement fibrillaire et son caractère compact, tandis que la portion sise sur l'île, comme les autres plantes de la même région, se morcelait en fragments et produisait des conidies? Le développement conidial sur l'île ne pouvait résulter du défaut d'oxygène, car ce mode de végétation se manifestait avec la plus grande profusion dans l'écume du verre à urine librement exposé à un air continuellement renouvelé. Au fait, l'air du « jardin de verre » n'était pas près d'être épuisé à cette période; car, à un

nouvel examen, le 3 octobre, je trouvai que le champignon filamenteux s'était étendu en rampant sur le plafond de la chambre à air et que par places même, il avait gagné les parois latérales le long desquelles il était descendu pour s'étaler sur le fond. L'explication la plus naturelle me parut être que l'agent modificateur de la forme de l'organisme était quelque produit volatil de la fermentation, probablement celui qui offensait si vivement l'odorat. Dégagé dans un espace confiné par deux plaques de verre, il s'accumulait et produisait ses effets sur les organismes; tandis qu'au contraire ce qui s'en produisait dans le mince filet liquide qui accompagnait la plante le long du plafond de la chambre à air, s'échappait dans cet espace aussitôt que produit, et laissait le fungus inaltéré. Cette opinion est puissamment confirmée par un autre fait que j'observai à l'époque du chargement de mon jardin de verre (11 septembre), à savoir que dans le premier verre à urine, la végétation fibrillaire qui avait été complètement absente 4 jours après l'inoculation, se remontra plus tard en abondance, formant de petits flocons laineux qui garnissaient les bords du verre. En d'autres termes, l'urine avait été rendue à des conditions compatibles avec la végétation fibrillaire, et l'explication naturelle est que la substance qui avait exercé une influence modificatrice sur l'organisme, influence repressive de la forme fibrillaire et stimulante de la végétation corpusculaire, était un produit volatil de fermentation, dérivé de quelque élément présent en quantité limitée dans le liquide, et qu'après exhaustion de cet élément et disparition de son produit volatil, l'organisme inférieur était redevenu libre de refaire des filaments comme dans l'urine fraîche.

L'investigation poursuivie à l'aide du jardin de verre a

donc abondamment prouvé que le champignon fibrillaire du liquide de Pasteur, les couples de corpuscules ovales vacuolés observés dans la première écume des verres à urine et les cellules sphériques nucléées d'une période ultérieure, n'étaient que les formes d'un seul et même organisme modifié par les circonstances. La dernière variété nous fournit un nouvel exemple d'une plante capable de conserver, des semaines durant, les caractères d'une *Torula* pure et sans mélange, à laquelle, si je ne l'avais vue sous d'autres formes, j'aurais cru ce nom générique aussi applicable qu'à la levure, et qui, cependant, nous l'avons rigoureusement démontré, n'est que la conidie d'un champignon fibrillaire. Si nous la comparons à la *Torula Ovalis* nous trouvons entre les deux végétaux cette différence curieuse : l'urine fraîche est un milieu où la *Torula Ovalis* voit prospérer spécialement sa forme toruloïde, tandis que sa forme fibrillaire ne s'y montre que lorsque le liquide a été altéré par l'influence zymique de cet organisme; le contraire a lieu pour l'autre plante en considération. Celle-ci, tout comme la *Torula Ovalis* ne provoqua pas la fermentation ammoniacale de l'urine, car le contenu du second verre à urine était encore fortement acide le 5 novembre, dix semaines après inoculation. Elle est néanmoins, comme nous l'avons vu, un ferment putréfacteur énergique de certains éléments de l'urine et sous ce rapport elle présente beaucoup d'intérêt. Comme l'aspect remarquable à l'œil nu de l'écume qu'elle produit dans le liquide altéré par elle, et le caractère toruloïde des cellules qui la constituent, paraissent être des caractères spécifiques suffisamment bien définis, il paraît désirable de lui donner un nom et j'ai proposé celui de *Oidium Toruloïdes*.

Quelques autres points, remarqués dans l'étude de cet individu végétal, me paraissent assez intéressants pour être rappelés ici. D'abord, les cellules toruloïdes sphériques de l'écume du second verre à urine, introduites dans un verre qui renfermait du liquide de Pasteur frais, ne donnèrent point les productions purement fibrillaires telles qu'elles étaient résultées de l'inoculation de la forme fibrillaire de l'organisme dans les deux premiers verres à solution de Pasteur; je n'y trouvai au contraire que de rares filaments imparfaits près de se morceler, tandis que le produit le plus abondant se composait de corpuscules ovales à vacuoles, semblables à ceux de l'écume d'urine à une période reculée; il en résulta un dépôt granuleux sur la paroi du verre et de l'écume à la surface du liquide, tandis que les deux autres verres à solution de Pasteur n'avaient point donné d'écume. Cette différence entre les trois verres dura tout le temps qu'ils restèrent en observation; le verre inoculé avec l'écume toruloïde offrit surtout un développement spumeux sans végétation fibrillaire visible à l'œil nu, jusqu'au 14 septembre, 18 jours après inoculation; les deux autres verres, à cette époque, n'avaient point encore d'écume et présentaient des touffes laineuses abondantes. Ce fait sert de preuve à une vérité générale importante savoir: qu'un mode particulier de végétation, imprimé à un organisme par sa résidence temporaire dans un milieu nouveau, peut être parfois conservé longtemps après que l'organisme a été rendu à son milieu précédent. L'effet de l'urine altérée sur cette espèce végétale, fut de substituer un développement corpusculaire à la végétation fibrillaire; rendus au liquide de Pasteur, les organismes eurent tendance à retourner à leur première forme, comme l'indique la trans-

formation des cellules sphériques nucléées en corpuscules ovales à vacuoles, et plus encore, le développement occasionnel de filaments grossiers et imparfaits; mais elles n'arrivèrent pas, au bout des 18 jours d'observation, à récupérer leur forme originale complète. Cette circonstance devient encore plus intéressante quand on se rappelle que les formes corpusculaire et fibrillaire semblaient douées de puissances zymiques différentes, la première forme ayant exercé sur l'urine une action plus énergique que la seconde. Des faits de cette espèce peuvent contribuer à élucider des points très-importants de l'histoire des maladies contagieuses, par exemple, la virulence plus grande à certaines époques qu'à d'autres. Il paraît très-probable, comme fait d'analogie, que la *materies morbi* ait la nature d'organismes microscopiques; et si tel est le cas, nous pouvons comprendre, d'après ce que nous avons vu pour l'oïdium qui nous occupe, que des différences d'énergie du virus peuvent être occasionnées par des circonstances variables.

L'impuissance de cette plante à reprendre la forme fibrillaire parfaite dans le liquide de Pasteur, rend d'autant plus remarquable le fait qu'elle y parvint dans l'urine fraîche. Il en résulte que ce produit d'excrétion parfaitement inaltéré, est un milieu plus favorable à l'organisme, puisqu'il lui permit un rétablissement impossible dans le liquide de Pasteur.

— Le dernier fait que j'ai à mentionner concernant ce même individu végétal, c'est la manière dont il se comporte dans un liquide albumineux. Je me préparai ce milieu, qui se montra utile dans des expériences à décrire plus loin, d'après le même principe que l'urine non bouillie; c'est-à-