

5° SULFOBACTÉRIES

Les organismes connus sous le nom de Sulfuraires ou Sulfobactéries possèdent en commun ce caractère physiologique, d'avoir besoin de soufre pour vivre et de l'emmagasiner dans leur protoplasme. Ils ne se développent abondamment que dans les eaux renfermant de l'hydrogène sulfuré; les sources sulfureuses sont par conséquent leur habitat naturel. On les trouve aussi dans les marais, les eaux stagnantes du rivage de la mer, partout où se rencontrent des débris de plantes et d'animaux en voie de putréfaction.

En dehors des sources sulfureuses, le développement des Sulfobactéries dépend de l'activité d'autres micro-organismes, qui leur préparent les conditions dont elles ont besoin. Il faut, avant tout, que les eaux renferment du sulfate de chaux. Les actions réductrices exercées par les Bactéries de la putréfaction transforment ce sulfate en sulfure, lequel, sous l'influence des acides, dégage de l'hydrogène sulfuré; dès lors, le milieu est propre au développement des Sulfobactéries. C'est ainsi, par exemple, que l'hydrogène sulfuré prend naissance quand la cellulose fermente dans une eau séléniteuse; il se fait en même temps du carbonate de chaux; tandis que, dans une eau exempte de sulfate de chaux, il se dégage du gaz des marais et de l'acide carbonique.

Dans les conditions naturelles ou artificielles propres au développement des Sulfobactéries, on voit apparaître non des formes isolées, mais un mélange de formes diverses. Là où il semblait n'en exister aucune en l'absence d'hydrogène sulfuré, on en trouve bientôt un nombre assez grand, ce qui prouve que ces Bactéries ont toutes les mêmes caractères physiologiques, du moins au point de vue du rôle que l'hydrogène sulfuré, c'est-à-dire le soufre, joue dans leur existence.

Au point de vue morphologique, les Sulfobactéries comprennent des formes très différentes; en outre, les unes sont incolores, les autres colorées en rose, rouge ou violet, ce qui permet de les diviser en deux groupes bien distincts.

A. — Les Sulfobactéries incolores habitent principalement les sources sulfureuses, où elles forment la « barégine » ou « glairine ». On a remarqué depuis longtemps dans leurs cellules des granulations de soufre, présentant l'aspect de gouttelettes réfringentes. Ce soufre est à l'état amorphe durant la vie; il ne cristallise qu'après la mort, quand on a tué les cellules par la chaleur, l'eau distillée, l'acide picrique, etc. Les cristaux ont la forme de prismes monocliniques ou d'octaèdres rhombiques; un même cristal peut prendre naissance aux dépens des granules de soufre contenues dans plusieurs cellules voisines. Ce soufre est facilement soluble dans l'alcool absolu et le sulfuré de carbone.

Le groupe des Sulfobactéries incolores comprend les deux genres *Beggiatoa* et *Thiothrix*, qui ont été nettement distingués par Winogradsky. Les espèces peu nombreuses qu'ils comprennent sont représentées par des filaments libres et mobiles chez les *Beggiatoa*, fixés par un bout et immobiles chez les *Thiothrix*.

B. — Les Sulfobactéries colorées se rencontrent aussi, comme les précédentes, dans les eaux sulfureuses; mais elles se développent surtout dans les milieux riches en hydrogène sulfuré provenant de la décomposition de matières organiques. Elles sont caractérisées par la présence de la bactério-purpurine et emmagasinent également le soufre dans leurs cellules. Winogradsky en dis-

tingue une douzaine de genres (*Thiocystis*, *Lamprocystis*, *Thiopedia*, *Chromatium*, etc.).

On a, pendant longtemps, attribué aux Sulfobactéries la production de l'hydrogène sulfuré et l'on pensait que ce gaz prend naissance grâce à la réduction exercée par ces organismes sur les sulfates contenus dans les eaux, après quoi des grains de soufre apparaissent dans la cellule par oxydation de l'hydrogène sulfuré. Mais les observations de Winogradsky ont montré que la production et l'oxydation de l'hydrogène sulfuré sont deux phénomènes distincts, produits par des organismes différents. Ce sont des Bactéries anaérobies de la putréfaction qui réduisent le sulfate de chaux en hydrogène sulfuré; puis les Sulfuraires, êtres aérobies, oxydent cet hydrogène sulfuré en donnant du soufre.

Quand on introduit, en effet, des *Beggiatoa* impurs dans de l'eau chargée de sulfate de chaux et contenue dans un vase ouvert, l'hydrogène sulfuré ne se dégage qu'après plusieurs jours. A ce moment, le liquide renferme des organismes divers, mais les *Beggiatoa* ne se multiplient qu'après la formation de l'hydrogène sulfuré. Si le vase est fermé, ce gaz prend également naissance et continue à se former pendant longtemps, mais les *Beggiatoa* périssent vite, dès que l'oxygène a disparu: ils n'interviennent donc pas dans la réduction des sulfates, laquelle est due aux organismes de la putréfaction.

Bien que Winogradsky n'ait pas réussi à isoler les *Beggiatoa* et à les cultiver à l'état de pureté complète, il a su se placer dans des conditions qui montrent nettement: 1° que les *Beggiatoa* placés dans une eau renfermant une petite quantité d'hydrogène sulfuré se remplissent de granules de soufre; 2° qu'ils perdent rapidement ces granules quand on les met dans une eau de source exposée à l'air; 3° que dans une eau chargée de gypse, ils se comportent exactement comme dans l'eau pure, en perdant d'abord leur soufre et en finissant par périr; 4° que si, dans cette même eau contenant du gypse, il se produit quelque phénomène de putréfaction due à d'autres organismes vivants ou morts dont il est à peu près impossible de débarrasser les *Beggiatoa*, ces derniers peuvent très bien conserver leur soufre ou en reprendre s'ils l'ont perdu, parce que la putréfaction survenue fournit de l'hydrogène sulfuré dont ils réalisent l'oxydation. Par là s'explique l'erreur de ceux qui, ayant mis des *Beggiatoa* dans une eau séléniteuse, leur avaient attribué la production d'hydrogène sulfuré; en réalité, ils avaient introduit en même temps dans leur liquide des impuretés organiques et des microbes anaérobies, qui, faisant putréfier la matière organique en présence du sulfate de chaux, avaient donné de l'hydrogène sulfuré.

L'habitat naturel des *Beggiatoa* est en parfaite harmonie avec ces résultats d'expérience. Ils ne se rencontrent pas seulement, en effet, dans les sources sulfureuses, mais aussi dans les eaux séléniteuses où des matières organiques se décomposent avec production d'hydrogène sulfuré. En outre, ils vivent au voisinage de la surface des liquides, où ils se trouvent en rapport avec l'oxygène qui leur est nécessaire pour l'oxydation du soufre.

Les Sulfuraires apparaissent ainsi comme des êtres ayant besoin d'hydrogène sulfuré pour vivre, alors que ce gaz est un poison pour tant d'autres. Toutefois, elles meurent dans des solutions un peu concentrées d'hydrogène sulfuré; il faut que la proportion de ce corps soit modérée, mais constante. L'accès de l'air doit être libre, puisque ce sont des aérobies; la teneur du liquide en matières organiques doit être tout à fait minime, mais constante aussi. Toutes ces condi-

tions ne sont réalisables que par le renouvellement fréquent du liquide approprié à la culture : c'est précisément ce qui a lieu dans les sources sulfureuses.

Mais le dépôt du soufre dans les cellules est-il bien réellement un phénomène physiologique et ne provient-il pas d'une action chimique ordinaire dans laquelle la vie de l'être n'aurait rien à voir? On sait que l'hydrogène sulfuré s'oxyde à l'air en donnant un dépôt de soufre et que, dans les eaux thermales précisément, une oxydation prolongée peut transformer ce gaz en acide sulfurique. Or, Winogradsky prouve que les filaments des *Beggiatoa*, dans les conditions où ils perdent leur soufre, le transforment en acide sulfurique, lequel est aussitôt neutralisé par les carbonates absorbés par la cellule vivante, et éliminé sous forme de sulfate, car jamais le liquide de culture ne devient acide. Il montre aussi que jamais l'oxydation de l'hydrogène sulfuré et sa transformation en acide sulfurique ne se font aussi vite en l'absence qu'en la présence des *Beggiatoa*; les filaments de ces plantes, morts ou tués par la chaleur, ne perdent pas leur soufre dans les conditions où les filaments vivants s'en débarrassent en quelques heures. Il s'agit donc bien là d'un phénomène physiologique. En l'absence de soufre, la nutrition s'arrête, la mort arrive plus ou moins rapidement.

Les Sulfuraires ont donc la propriété de décomposer l'hydrogène sulfuré; elles le brûlent en déposant du soufre dans leurs cellules; elles oxydent le soufre et le transforment en acide sulfurique.

Quant aux Sulfobactéries colorées, elles sont capables, comme les précédentes, de vivre dans des liquides contenant de l'hydrogène sulfuré, de se garnir de soufre et de transformer ce corps en acide sulfurique. Mais elles supportent pour la plupart, comme on l'a dit, des solutions d'hydrogène sulfuré beaucoup plus concentrées et présentent le fait singulier d'organismes auxquels l'oxygène est indispensable et qui pourtant se comportent presque comme des anaérobies, vivant de préférence dans la profondeur des liquides, là où les espèces incolores ne peuvent le faire.

Dans la mer Noire, on trouve en abondance des Sulfobactéries rouges, qui détruisent l'hydrogène sulfuré produit par d'autres Bactéries. A 200 mètres de la surface, l'eau renferme partout de l'hydrogène sulfuré, dans la proportion de 55 centimètres cubes par litre. La quantité de ce gaz va en augmentant avec la profondeur et atteint 6^{cc},55 par litre à 2570 mètres; elle est donc 20 fois plus grande au fond de la mer que vers la surface. La formation de l'hydrogène sulfuré est due à des Bactéries qui possèdent un caractère anaérobie très manifeste et se développent à partir d'une profondeur de 200 mètres, à une température de 9°, en empruntant leur carbone aux varechs en voie de décomposition et en décomposant les sulfates dissous. La production d'ammoniaque, qui accompagne dans ce cas celle de l'hydrogène sulfuré, réalise les conditions nécessaires pour que l'eau de mer, chargée de sels de fer, donne lieu à des dépôts vaseux dont la couleur varie du gris verdâtre au rouge brun. Le même phénomène se produit dans les golfes marécageux d'Odessa.

Parmi les Sulfobactéries colorées qui décomposent l'hydrogène sulfuré ainsi formé, Yégounoff a surtout trouvé des formes spiralées, constituées par des vibrions accolés bout à bout, qui ressemblent, quand ils sont isolés, au Bacille virgule. Ces organismes, mobiles, ayant besoin d'oxygène, s'accumulent dans les points qui conviennent le mieux à leur existence et forment, à un certain

niveau, là où ils trouvent de l'hydrogène sulfuré, une colonie immense qui oxyde tout le gaz sulfhydrique remontant de la profondeur.

Comme les Sulfobactéries incolores, les espèces colorées se contentent de minimes proportions de substances organiques. Winogradsky se servait, dans ses cultures, d'une eau de source qui n'en renfermait que des traces et à laquelle il ajoutait de 5 à 10 milligrammes pour 100 de butyrate ou de formiate de chaux, ou d'acétate de soude. L'addition de peptone ou d'extrait de viande n'offrait aucun avantage.

Comment expliquer ces propriétés singulières, qui font de l'ensemble des Sulfobactéries des êtres à part? Quelle est la signification du processus d'oxydation du soufre et quels sont ses rapports avec la vie?

Pour Winogradsky, ce processus correspond à la respiration, quoiqu'il en diffère essentiellement par ses caractères. Chez les Sulfobactéries, la division, l'accroissement, les mouvements n'existent qu'aussi longtemps que le soufre est présent dans les cellules; s'il vient à manquer, elles se désorganisent et meurent. Le soufre paraît donc être le seul élément respiratoire. Il joue le même rôle que les hydrates de carbone chez les autres organismes; son oxydation est la seule source d'énergie et, quand il fait défaut, aucun autre élément ne peut le remplacer. Il n'y a donc, apparemment, aucun motif d'admettre qu'il existe parallèlement un autre processus d'oxydation avec dégagement d'acide carbonique, d'autant que la faible quantité de matières organiques dont ces êtres se contentent, et qui serait insuffisante à d'autres Bactéries, ne pourrait suffire à la production de l'énergie nécessaire à la vie.

Cependant, il paraît bien difficile de séparer aussi profondément les Sulfobactéries des autres cellules vivantes. Si les expériences de Winogradsky démontrent le rôle capital du soufre, elles ne prouvent pas que, dans leur respiration, ces êtres ne transforment pas le carbone en acide carbonique. Il semble assurément plus rationnel de penser que la force vive, produite par l'oxydation du soufre, est employée à décomposer l'acide carbonique formé par l'acte respiratoire. Étant donnée la minime quantité d'énergie dépensée sous la forme de travail mécanique (locomotion, division), il est, en effet, peu admissible que la totalité, relativement énorme, de l'énergie actuelle fournie par la combustion du soufre soit perdue à l'extérieur comme chaleur et qu'une partie au moins n'en soit pas utilisée au profit direct de l'organisme.

4° FERROBACTÉRIES

On trouve dans les eaux ferrugineuses des Bactéries pourvues d'une gaine imprégnée d'oxyde de fer hydraté, qui leur donne une couleur de rouille. Ehrenberg avait attribué à ces organismes les dépôts de fer limoneux qu'on trouve en abondance dans certaines régions.

Cohn pense que la formation de ce dépôt ocreux dans la gaine est sous la dépendance du fonctionnement vital de la cellule et le compare à celui de la silice dans la carapace des diatomées. Zopf, au contraire, ne voit là qu'une précipitation purement mécanique.

Parmi ces Bactéries, le *Leptothrix ochracea* est une des mieux connues depuis les observations de Winogradsky. Elle se présente sous forme de filaments fixés par un bout, composés de nombreux articles ou bâtonnets, entourés d'une

gaine gélatineuse dont l'épaisseur, à la base du filament, atteint jusqu'à quatre fois le diamètre de celui-ci. La gaine va en diminuant vers la partie terminale, où elle fait tout à fait défaut. Sa croissance ne marche pas de pair avec celle du filament; à mesure qu'elle s'épaissit et se colore, ce dernier s'en échappe et s'en débarrasse. Ou bien il s'en sépare complètement, ou bien il lui reste adhérent et se met à pousser de nouveau, simulant avec elle de fausses ramifications qui rappellent celles du *Cladothrix dichotoma* et qui l'ont fait rapporter par Zopf à ce dernier. Mais Winogradsky a démontré que le *Leptothrix ochracea* forme une espèce distincte.

Les Bactéries ferrugineuses se rencontrent principalement dans les sources chargées de bicarbonate de fer. On les cultive sans difficulté dans de l'eau renfermant une faible quantité de ce composé, mais elles ne se développent pas s'il fait défaut; elles ne croissent pas davantage dans les milieux de culture ordinaire.

Le carbonate de protoxyde de fer remplirait chez elles, selon Winogradsky, le même rôle que l'hydrogène sulfuré chez les Sulfobactéries. Il est oxydé dans le protoplasme de la cellule et transformé vraisemblablement en une combinaison organique soluble, qui diffuse ensuite dans la gaine où elle laisse déposer de l'hydrate ferrique insoluble. C'est après l'imprégnation complète de la gaine par ce dépôt que la Bactérie quitte son enveloppe ocreuse.

Cette explication du rôle du fer n'est pas admise par tous les auteurs. Molisch pense que ce corps ne joue pas dans la nutrition un rôle plus important que celui de la silice chez les Graminées. Le fer peut être remplacé complètement par le manganèse; il ne pénétrerait pas dans le protoplasme, mais serait simplement précipité dans la gaine. C'est revenir, comme on voit, à l'opinion de Zopf. La formation des dépôts de sesquioxyde de fer hydraté dans la nature ne serait que pour une faible partie le résultat du travail des Bactéries; Molisch n'a rencontré aucune de ces dernières dans la plupart des échantillons de provenance diverse qu'il a examinés.

Mais, de ce que le fer peut être remplacé par le manganèse, il ne s'ensuit pas que l'opinion de Winogradsky soit inadmissible. D'autre part, les résultats négatifs de la recherche dans les amas de fer limoneux ne trouvent peut-être pas, comme on l'a pensé, une explication suffisante dans le fait que les Ferrobactéries quittent la gaine qui les entoure.

En résumé, si le rôle physiologique du fer dans la vie de ces organismes ne semble pas douteux, il pourrait se faire aussi que l'oxydation, qui le fait passer à l'état insoluble, ne soit pas sous la dépendance exclusive du protoplasme et que l'oxygène de l'air intervienne en même temps dans le phénomène.

5° NITROBACTÉRIES

La nitrification constitue l'un des phénomènes les plus importants de la nature. C'est surtout à l'état de nitrates que les végétaux supérieurs empruntent au sol l'azote dont ils ont besoin. Par une série de transformations successives, opérées par des micro-organismes divers, les matières azotées du sol sont amenées à l'état d'acide carbonique, d'eau et d'ammoniaque. L'azote revêt ainsi la forme minérale. Les nitrates eux-mêmes sont réduits à l'état d'ammoniaque par divers microbes.

À l'état de composé salin, l'ammoniaque peut bien servir d'aliment aux

plantes vertes, comme Müntz l'a mis en évidence; mais, le plus souvent, elle n'est utilisée qu'après sa transformation en nitrate. La nitrification est également le fait intéressant de la purification des eaux chargées de matières organiques.

Schlöesing et Müntz, en montrant que les nitrates ne se forment plus dans un sol stérilisé, soit par la chaleur, soit par les agents connus comme contraires à la vie en général, ont mis hors de doute l'intervention d'êtres animés; mais il restait à isoler les agents de la nitrification.

Bien des savants tentèrent d'y parvenir. Les uns trouvèrent que le pouvoir nitrifiant appartient à beaucoup d'espèces banales, mais ils n'obtenaient qu'une nitrification insignifiante, manifestée seulement par les réactifs les plus sensibles. Or, l'atmosphère contient constamment de l'acide nitreux et de l'acide nitrique. Herceus avait constaté que plusieurs microbes (*Bacillus prodigiosus*, Bacille typhique, Bacille du charbon, Spirille de Fkinler, etc.) donnent de l'acide nitreux aux dépens de l'ammoniaque; Hueppe avait fait la même remarque pour des Bactéries du sol. Mais la proportion d'acide nitreux ou d'acide nitrique formé était si peu marquée qu'elle ne pouvait servir à expliquer le phénomène de la nitrification.

D'autres observateurs, cherchant à séparer les microbes présents dans un liquide ammoniacal devenu, après ensemencement avec de la terre, le siège d'une nitrification intense, n'en trouvèrent pas un qui eût le pouvoir nitrifiant. C'est qu'ils employaient, comme procédé de séparation, les cultures en milieux gélatinisés, procédé qui ne permettait pas d'exclure les Bactéries saprophytes.

Frankland et Warington s'adressèrent alors à la méthode des dilutions. Ils obtinrent de la sorte des organismes qui produisaient une proportion notable de nitrite aux dépens de l'ammoniaque, mais seulement des traces de nitrate. Au contraire, la nitrification spontanée qui se produit dans la terre engendre uniquement des nitrates, ou du moins la présence de nitrites n'y a été observée que comme une exception.

Ce difficile problème de la nitrification a été résolu par Winogradsky, qui a réussi à isoler du sol, dans lequel ils vivent côte à côte, deux sortes de microbes nitrifiants absolument distincts. Les premiers sont les ferments nitreux, qui transforment l'ammoniaque en acide nitreux, mais ne poussent pas plus loin l'oxydation; les seconds sont les ferments nitriques, qui changent les nitrites en nitrates, mais sont incapables d'oxyder l'ammoniaque.

Winogradsky a reconnu d'abord ce fait inattendu, et qui explique en partie les échecs antérieurs, à savoir que la moindre trace de matière organique dans le milieu de culture entrave la multiplication de ces Bactéries. Dans ses premières recherches, faites par la méthode des dilutions, le liquide employé contenait du sulfate d'ammoniaque, du phosphate de potasse et du carbonate de chaux (1 gramme de chaque sel pur dans 1000 grammes d'eau distillée). Mais ce liquide, si défectueux pour les micro-organismes ordinaires, laissait encore à désirer pour l'isolement certain des espèces nitrifiantes.

L'auteur lui substitua alors un milieu de culture formé par de la silice colloïdale, qu'il additionnait d'un mélange de sulfate d'ammoniaque et de magnésie, de phosphate de potasse, avec traces de chlorure de calcium et carbonate de soude, ce dernier sel pouvant être avantageusement remplacé par le carbonate de magnésie. La gelée siliceuse ainsi obtenue est légèrement opaque, et c'est par des taches transparentes que se révèlent les colonies, grâce à la dissolution du carbonate de magnésie par l'acide qu'elles produisent. C'est