

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

à peine si les colonies sont visibles à l'œil nu; mais, à un faible grossissement, elles présentent un aspect tout à fait caractéristique. On peut ainsi prélever la semence sur une colonie isolée et la transporter soit sur le même milieu, soit dans le liquide précédemment indiqué.

Ce milieu solide s'est montré très avantageux pour l'isolement des Nitrobactéries, les autres microbes ne s'y développant que très difficilement. Cependant, les Nitrobactéries n'y forment pas de ces larges colonies comme on est habitué à en voir dans les cultures sur gélatine des Bactéries ordinaires.

Appliqué à des terres d'origine variée, le procédé a permis d'obtenir les deux sortes de ferments nitreux et nitriques, à l'état de pureté. Les ferments nitreux appartiennent, d'après Winogradsky, à deux genres: l'un propre aux terres de l'ancien monde (*G. Nitrosomonas*), l'autre à celles du nouveau monde (*G. Nitrosococcus*). Les ferments nitriques, qui accompagnent les précédents partout où la nitrification se produit, constituent un genre unique (*G. Nitrobacter*).

Mais comment, dans les milieux purement minéraux, les Nitrobactéries peuvent-elles se multiplier indéfiniment et créer leur substance organique? C'est ici que les recherches précédentes ont révélé ce fait imprévu, à savoir que ces êtres peuvent assimiler le carbone de l'acide carbonique, tout en étant dépourvus de tout pigment chlorophyllien ou autre, et cela en l'absence de la lumière. Dès ses premières expériences sur les ferments nitreux, Winogradsky a été amené à penser que la substance organique de ces microbes se forme aux dépens du carbone des carbonates. Cette synthèse se distingue de l'action chlorophyllienne en ce qu'il n'y a pas de dégagement corrélatif d'oxygène.

Plus récemment, tout en confirmant le résultat essentiel obtenu par ce savant, à savoir que les nitrosomonades transforment l'ammoniaque en acide nitreux, mais ne peuvent la changer en acide nitrique, Godlewski a montré que la nitrification s'arrête dans une solution d'un sel ammoniacal ensemencé avec ces Bactéries, lorsqu'on ne laisse arriver que de l'air débarrassé de son acide carbonique et de tout composé organique volatil, et cela malgré le carbonate de chaux ou de magnésie qu'on est obligé d'ajouter au liquide de culture, à la fois pour neutraliser ce liquide et pour fournir au microbe un aliment. Il en a conclu que les carbonates ne peuvent servir comme source de carbone aux nitrosomonades, lesquelles, au contraire, puisent leur carbone dans l'acide carbonique libre. Il ajoute aussi qu'une partie seulement de l'ammoniaque disparue se retrouve dans l'acide nitreux; l'autre partie fournit de l'azote libre, qui s'échappe de la solution, et dont la proportion varie suivant les conditions de la culture.

Duclaux se demande si l'acide carbonique de l'air ne serait pas simplement nécessaire pour amorcer la nitrification et si, à partir du moment où le carbonate a commencé à fournir de l'acide carbonique, celui-ci ne serait pas décomposé par le microbe. On ne conçoit guère pourquoi, en effet, cet acide du carbonate, dissous dans le liquide de culture, ne pourrait pas servir d'aliment au même titre que l'acide carbonique de l'air. Peut-être aussi l'acide carbonique de l'air, ayant subi l'action prolongée des rayons solaires, serait-il plus instable ou plus facile à décomposer que celui des carbonates?

Quoi qu'il en soit à cet égard, il n'en reste pas moins établi que l'acide carbonique est l'unique source de carbone pour les organismes en question.

En est-il de même pour les ferments nitriques? La réponse à cette question, dit Winogradsky, est d'autant plus difficile que les phénomènes de synthèse de

la substance organique sont plus faibles chez les ferments nitriques que chez les ferments nitreux. Toutefois, malgré l'absence d'une démonstration rigoureuse, on sera porté à admettre, par analogie, que leur nutrition carbonée ne diffère pas essentiellement de celle des ferments nitreux, surtout en songeant que les substances organiques n'exercent, chez les uns comme chez les autres, aucune influence favorable sur leur action et leur multiplication.

Il y a, chez les ferments nitriques, une grande disproportion entre l'action assimilatrice et l'action oxydante. Le rapport entre le carbone assimilé et l'azote oxydé est sensiblement constant (1 : 55); la proportion relativement très élevée de l'azote n'a rien de surprenant, si l'on remarque que la seule source d'énergie pour ces organismes est l'oxydation. Leur pouvoir ferment est donc très considérable. Mais, si l'on envisage au contraire la faible énergie du processus vital, on leur assignera le dernier rang dans l'échelle des êtres vivants.

En considérant cette puissance d'oxydation, remarquable surtout dans la terre de Quito, on s'étonne moins de l'abondance de ces énormes dépôts de salpêtre du Pérou et du Chili, formés dans des conditions dont nous ne savons rien aujourd'hui, et qui paraissent résulter d'une nitrification gigantesque remontant aux époques les plus reculées.

6° BACTÉRIES FIXATRICES D'AZOTE

Jusqu'à une date récente, le rôle de l'azote atmosphérique dans la végétation était considéré comme nul. Et pourtant, l'expérience seule, en dehors de toute idée spéculative, permet d'établir que l'intervention de l'azote libre dans la végétation est d'une nécessité absolue. Il suffit pour cela de faire la balance entre les causes de perte et les causes de gain de la terre en combinaisons azotées. Les observations de la pratique agricole montrent, en effet, que la somme des matières azotées disponibles dans la nature ne saurait suffire aux exigences de la végétation. Il est donc nécessaire que l'azote gazeux intervienne directement pour une part, et cette part, comme on sait, est très importante pour les Légumineuses.

C'est ce que M. G. Ville a soutenu dès 1849, après avoir cultivé diverses plantes sur un milieu dont la teneur en azote était connue. Mais les résultats étaient variables dans des conditions en apparence identiques, et des irrégularités, inexplicables à cette époque, se manifestaient dans la culture des Légumineuses.

On sait aujourd'hui que l'irrégularité des résultats fournis par les Légumineuses dans les conditions qui précèdent est en rapport avec la présence ou l'absence de nodosités spéciales sur leurs racines. G. Ville n'en pouvait soupçonner la cause; il n'était pas maître de ses expériences. D'autres observateurs, pour la même raison, n'obtinrent que des résultats négatifs, et Boussingault, après une discussion restée célèbre, posa en principe que les végétaux, à quelque espèce qu'ils appartiennent, sont incapables de prendre à l'air la moindre quantité d'azote. La question ne devait entrer dans une phase nouvelle que beaucoup plus tard.

Berthelot, le premier, en 1885, annonça l'intervention des micro-organismes dans la fixation de l'azote libre par le sol. Peu de temps après, il constata que le phénomène est exalté par la culture des Légumineuses. Le sol s'enrichit en