

L'analyse montre que le microbe, dans l'air débarrassé de toute trace d'azote combiné, fixe l'azote libre : dans la première culture, le rapport de l'azote gagné à l'azote initial est voisin de deux tiers (0,60); dans la seconde, il atteint 1,04. Le rapport de l'azote gagné au sucre initial fourni au microbe est environ de 1 pour 100. Par suite, si les mêmes conditions étaient réalisées dans la plante, celle-ci devrait fournir au Bacille un poids d'hydrate de carbone 100 fois plus grand que le poids de l'azote qui fait partie de ses tissus à la fin de son développement.

En dehors du cas spécial des Légumineuses, Berthelot a démontré en 1885, comme on l'a vu, la présence dans le sol de micro-organismes fixateurs d'azote. Ses recherches ultérieures l'ont conduit à admettre que ces êtres doivent appartenir à des espèces fort diverses. Leur nutrition exige certains principes hydrocarbonés pour permettre la fixation de l'azote. Il paraît même nécessaire que ces substances nutritives renferment déjà quelque peu de principes azotés, pour donner aux êtres inférieurs le minimum de vitalité indispensable à l'absorption de l'azote libre. Lorsque ces principes sont trop abondants, le microbe vivra de préférence à leurs dépens; l'expérience prouve qu'il est plus florissant dans les milieux riches en azote combiné que dans les milieux pauvres, où il doit exécuter un travail spécial pour fixer l'azote de l'air.

Cependant, avant 1895, on n'avait encore isolé, à part le microbe des tubercules des Légumineuses, aucune espèce déterminée parmi les micro-organismes fixateurs d'azote. Winogradsky s'est efforcé d'y parvenir et il a réussi à isoler un bacille anaérobie, semblable aux ferments butyriques, qu'il désigne sous le nom de *Clostridium Pasteurianum*. Ce bacille fixateur d'azote a été obtenu avec toutes les terres essayées. La proportion de sucre qu'il consomme, comparée à celle de l'azote fixé, est considérable; il se comporte donc comme le microbe des tubercules de Légumineuses.

Quel est le mécanisme de la fixation de l'azote libre par cet anaérobie? Il est vraisemblable qu'il consiste dans la rencontre de l'azote avec l'hydrogène naissant au sein du protoplasme vivant, et Winogradsky suppose que la synthèse de l'ammoniaque pourrait en être le résultat immédiat.

D'autres microbes possèdent-ils aussi la propriété de fixer l'azote gazeux? C'est fort probable. Dans ces dernières années, on a constaté également que l'association de certaines Algues inférieures avec les Bactéries permet la fixation de l'azote atmosphérique. Dans ce cas, c'est l'Algue qui fournit au microbe la substance hydrocarbonée dont il a besoin pour se nourrir et dont la destruction est la source d'énergie nécessaire à la fixation de l'azote libre.

Le rôle de l'azote atmosphérique dans la végétation est donc établi maintenant d'une façon positive. Cet élément, considéré pendant si longtemps comme inerte, peut entrer en combinaison sous l'influence de certains micro-organismes; il y a des fixateurs d'azote, comme il y a des fixateurs de carbone; le rôle de ces deux sortes d'agents est complémentaire.

CHAPITRE IV

LE POLYMORPHISME ET L'ESPÈCE EN BACTÉRIOLOGIE

SOMMAIRE : 1° Ce qu'il faut entendre par polymorphisme et par constance de forme. — Influence du milieu. — 2° Opinions de Cohn, Nægeli, Zopf, etc. — 3° Recherches de Winogradsky. — 4° Polymorphisme expérimental et polymorphisme normal; leurs limites. — 5° Variations physiologiques : formation des races. — 6° Le transformisme reste encore à démontrer.

1° CE QU'IL FAUT ENTENDRE PAR POLYMORPHISME ET PAR CONSTANCE DE FORME — INFLUENCE DU MILIEU SUR LA MORPHOLOGIE

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 ces organismes comme elle varie chez les autres végétaux; mais cette variabilité ne comporte pas une inter-

prétation 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 tous les naturalistes.

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 *Lynghya* 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 *Lynghya* 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 lévulose. 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.

2^e OPINIONS DE COHN, NÆGELI, ZOPF, ETC.

F. Cohn avait fondé sa classification sur l'extrême simplicité des formes bactériennes, sur un monomorphisme relativement constant. Les formes végé-

tatives 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, Nægeli 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 végétation d'espèces polymorphes.

En réalité, Zopf n'avait vu ce polymorphisme que dans quelques Bactéries relativement élevées en organisation, les *Beggiatoa* et les *Cladothrix*; 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 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 des réserves qu'un simple coup d'œil sur les planches de Zopf, représentant des Algues d'organisation plus complexe et de dimension plus grande 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'êtres 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 Flahaut, 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. »

5^e RECHERCHES DE WINOGRADSKY

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 même 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 comparables aux homogonies des Nostocacées, 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 zooglées; 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 coccus 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 vibrion 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.