

celui des variétés devenues constantes, il appliquait lui-même un démenti à la définition trop étroite qu'il avait donnée de l'espèce dans le *Genera plantarum* et dans la *Philosophia botanica*, conformément à la tradition des théologiens qui s'obstinent à chercher dans la Bible les principes directeurs des sciences biologiques et cosmologiques.

Puisque l'hérédité est le criterium de l'espèce, on pourrait dire métaphoriquement qu'une race est une aspirante au rang d'espèce et qu'elle conquiert définitivement cette dignité lorsqu'elle a donné des preuves d'une longue persévérance. Il n'est donc pas exact d'affirmer que toutes les espèces ont été simultanément créées dès le commencement du monde. En laissant de côté l'origine inconnaissable des premiers êtres vivants qui ont apparu à la surface de notre planète refroidie, il est permis de supposer, sans invraisemblance, qu'un grand nombre des espèces considérées actuellement comme autonomes ont été d'abord des races. Cette conjecture est une simple extension de la doctrine, peu connue jusqu'à ce jour, de Linné touchant la formation des variétés constantes.

SÉANCE DU 5 MARS 1889

PRÉSIDENTE DE M. LE D^r L. BLANC.

Le procès-verbal de la précédente séance est lu et adopté.

La Société a reçu :

Bulletin de la Société botanique de France, XXXV ; comptes rendus des séances, 5. — Journal de botanique, dirigé par M. Morot, III, 3, 4, 5. — Journal de la Société nationale d'horticulture de France, XI, 1 ; liste générale des Membres. — Feuille des jeunes naturalistes, dirigée par M. Ad. Dollfus, 221, 1889. — Revue scientifique du Bourbonnais, dirigée par M. Olivier, II, 2. — Archives botaniques du nord de la France, dirigées par M. Bertrand, I à 49.

COMMUNICATIONS.

M. le D^r GABRIEL ROUX fait la communication suivante :

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MORPHOLOGIE ET DE LA BIOLOGIE DU CHAMPIGNON DU MUGUET.

Depuis le mois de juillet 1888, j'ai entrepris en collaboration avec M. Linossier, professeur agrégé à la Faculté de médecine,

une étude bio-chimique du champignon du muguet en appliquant à cet être les procédés ordinaires et aujourd'hui bien connus de la Microbie.

Je désire entretenir aujourd'hui la Société botanique des faits d'ordre morphologique qui l'intéressent plus particulièrement.

Le champignon du muguet, assez fréquent sur la langue et les muqueuses buccales et pharyngiennes de l'homme malade et de l'enfant atrepsique, chez lequel on le connaît dans le public sous le nom de *Blanchet*, a été bien vu pour la première fois par Berg de Stockholm, en 1842, et a reçu depuis des noms très variés, suivant l'idée que l'on se faisait de sa nature botanique.

C'est ainsi qu'à l'appellation par trop générale d'*Aphthaphyte* proposée par Gruby, Ch. Robin, en 1853, dans son histoire naturelle des végétaux parasites de l'homme et des animaux, substitua celui d'*Oidium albicans*, nom sous lequel ce champignon est encore connu de la plupart des médecins.

En 1868, Quinquaud, dans les *Archives de Physiologie* crut utile de former un nouveau genre, celui de *Syringospora* auquel il joignit à juste titre le nom spécifique de *Robinii*.

Grawitz, en 1877, dans un travail publié dans les *Archives de Virchow*, pense, absolument à tort, que ce champignon n'est qu'une forme du *Mycoderma vini*.

Rees, Van Tieghem enfin et les botanistes modernes en font un *Saccharomyces* sous le nom de *Sacch. albicans*; c'est à cette dernière opinion que se rangent même quelques médecins et notamment M. Ch. Audry, interne distingué des hôpitaux de Lyon, dans un bon travail publié dans la *Revue de médecine* de 1887. Plaut, cette même année, publia un important travail sur lequel j'aurai plus tard à revenir, et dans lequel il considéra le *S. albicans* comme identique à la *Monilia candida* Bonord.

Quant à nous, nous ne voulons pour le moment formuler aucune opinion; celle-ci découlera, en effet, des constatations que nous avons à faire connaître, et ce n'est que lorsque tous nos jalons seront posés que nous discuterons la véritable nature du végétal en question et sa place dans la taxinomie.

Pour ne rien préjuger, nous nous contenterons de l'appeler : *Champignon du muguet*, et si parfois nous employons les expressions d'*Oidium* ou de *Saccharomyces albicans*, ce sera

tout simplement à titre de synonymes et pour faciliter la rédaction de cette note.

L'habitat le plus ordinaire et le plus connu de ce champignon est la muqueuse buccale, linguale et pharyngienne de l'homme, à la surface de laquelle il constitue une membrane d'un blanc éclatant, se résolvant elle-même au microscope en filaments plus ou moins longs et ramifiés, enchevêtrés en feutrage plus ou moins serré, et en globules ronds ou ovoïdes, libres ou soudés aux filaments, ces éléments globulaires ayant reçu de la plupart des auteurs un peu anciens le nom de *conidies*; le tout, enfin, est mélangé de cellules épithéliales, de globules muqueux et de bactéries de toutes sortes.

L'excellence de la description et des figures données par Charles Robin de cette phase du champignon du muguet me dispensent d'y revenir et d'y insister.

Dans l'étude longue et délicate que nous nous étions donné mission d'accomplir, M. Linossier et moi, la première condition de succès, condition indispensable et du reste assez facile à réaliser pour quiconque connaît la technique bactérioscopique, c'était l'isolement à l'état absolument pur de l'*Oidium albicans*, sa dissociation d'avec les autres micro-organismes qui l'accompagnent dans la bouche, dissociation tentée au reste déjà par Grawitz et obtenue par Van Tieghem, Audry, Plaut, etc.

Voici comment nous procédons pour nous procurer à coup sûr et rapidement le champignon du muguet absolument pur et isolé : nous diluons dans 4 ou 5 c. c. d'eau stérilisée ou de bouillon aseptique une très minuscule parcelle de la membrane prise dans la bouche d'un malade atteint du blanchet, puis au moyen d'une pipette de verre très effilée et flambée, nous commençons successivement, suivant les principes indiqués par Esmarch, trois tubes de gélatine-peptone liquéfiée à 30° et numérotés 0, 1 et 2; nous solidifions ensuite rapidement la gélatine sous un jet d'eau froide en l'enroulant en couche mince et uniforme sur la face interne de chacun des tubes, et nous avons ainsi ce qui est connu en microbie sous le nom de *plaque enroulée* d'Esmarch. (Je n'insiste pas sur les détails de technique et sur l'explication théorique de cette opération que l'on trouvera dans tous les traités de Bactériologie.)

Les colonies fournies par l'*Oidium albicans* se développant beaucoup plus hâtivement que celles des autres micro-orga-

nismes de la bouche (cocci, bacilles, etc.), au bout de quarante-huit heures déjà, si la température est maintenue à 20° environ (ne pas aller au delà, en raison de la fluidification de la gélatine), elles apparaissent sur les parois internes des tubes, sous forme de petits points blancs strictement arrondis, qui s'accroissent assez vite, jusqu'à atteindre le volume d'une tête d'épingle, et font un léger relief au-dessus de la gélatine qu'elles ne liquéfient jamais.

On n'a plus alors qu'à aller puiser avec un fil de platine flambé au centre d'une de ces colonies dont on vérifie l'identité au microscope, et avec la parcelle ainsi cueillie et absolument pure on peut ensemençer tel milieu que l'on désirera expérimenter. Mais ici une première constatation de la plus haute importance est faite par l'observateur; il ne retrouve plus sous le microscope cet amas de filaments plus ou moins ramifiés et enchevêtrés et de globules qu'il avait rencontré sur la langue, mais tout simplement une accumulation de petites cellules arrondies ou ovoïdes, simples ou bourgeonnantes, ressemblant tout à fait à certaines sortes de levûre, d'où le nom de *forme levûre* donné à cette phase par plusieurs auteurs, qui en ont fait même la forme la plus importante (*Saccharomyces*), et qui mérite d'être conservé. C'est cette phase, qu'en raison de son extrême simplicité et aussi de son importance biologique, nous prendrons comme point de départ de la description morphologique qui va suivre.

Nous conseillons, lorsqu'on veut avoir une culture copieuse et bien nourrie de cette forme levûre exclusive, de transporter directement et d'ensemencer par strie une parcelle d'une des colonies d'un tube d'Esmarch sur un fragment de carotte cuite placée dans un *tube de Roux* préalablement stérilisé; en quarante huit heures à l'étuve de 35°, on obtient une magnifique culture d'un blanc de neige crémeuse et faisant une légère saillie.

Au microscope, les globules de levûre s'y présentent isolés ou accompagnés d'un ou deux bourgeons de dimensions variables, à protoplasma hyalin non vacuolaire, et renfermant un ou deux petits grains de 0^{mm},005 à 0^{mm},001 de diamètre, souvent mobiles; il n'y a rien qui ressemble à un véritable noyau; une membrane d'enveloppe est manifeste; cette dernière n'est pas constituée par de la cellulose, comme l'indique l'action du chlorure de

zinc iodé; quant au protoplasma, il donne avec les couleurs d'aniline les réactions colorantes propres à celui des microbes proprement dits, et comme celui de beaucoup de ces derniers, il n'est pas décoloré par l'alcool après action du liquide de Gram. Malgré un très grand nombre de tentatives, nous n'avons jamais pu déceler la présence d'un noyau organisé; mais il semble, étant données les réactions colorantes du protoplasma ci-dessus énoncées, que la substance nucléaire s'y trouve à l'état diffus; dans certaines conditions, enfin, du glycogène est réparti par zones plus ou moins riches dans l'intérieur de la cellule. Quant aux points réfringents et mobiles, ils paraissent être aussi de nature protéique.

Nous pouvons ensuite, à volonté en quelque sorte, reproduire la phase initiale globulo-filamenteuse en transportant notre culture de la carotte sur du melon par exemple, ou dans certains liquides nourriciers plus ou moins sucrés, dont un des plus fréquemment employés par nous est le suivant dont la formule est due à Nægeli et auquel nous ajoutons de 1 à 2 % de saccharose :

Eau.....	1 c. c.
Tartrate d'ammoniaque.....	1 gr.
Phosphate bi-potassique.....	0 gr. 10
Sulfate de magnésie.....	0 gr. 02
Chlorure de calcium.....	0 gr. 01

Nous avons cultivé le champignon du muguet sur plus de cent milieux naturels ou artificiels, liquides ou solides et les résultats de nos cultures suivies avec soin, comparées les unes aux autres avec la plus grande impartialité, nous ont permis d'acquérir, au sujet de son histoire morphologique et biologique, quelques connaissances nouvelles que je me contenterai de résumer brièvement ici, leur développement devant être exposé dans un mémoire d'ensemble qui paraîtra prochainement (1).

Si nous partons de la *forme levûre* présentée par le champignon du muguet cultivé sur gélatine-peptone ou sur carotte,

(1) La première partie de ce mémoire paraîtra dans le numéro de janvier 1890 des *Archives de médecine expérimentale*. (Paris, G. Masson, éditeur.)

nous voyons qu'elle se reproduit indéfiniment sur certains milieux, tandis que sur d'autres elle se transforme rapidement et donne naissance à la *phase globulo-filamenteuse*.

A quoi sont dus ces changements de forme ?

Quelques auteurs, et notamment Audry, ont pensé qu'ils étaient surtout en rapport avec l'état solide ou liquide du substratum nutritif, le premier favorisant la production de la forme levûre, et le second celle de la forme filamenteuse ; un coup d'œil jeté sur le tableau suivant montrera que les choses ne se passent pas d'une façon aussi nette et aussi absolue.

<i>Solides.</i>	<i>Liquides.</i>
Tomate, forme levûre.	Jus de tomate, quelques filaments au début.
Carotte, — et quelques filaments.	Jus de carotte, — —
Rave, —	Bouillon de Lœffler, filaments assez nombreux.
Pomme de terre, forme levûre et quelques filaments.	Urine, pas de filaments.
Betterave, —	Vin chauffé, peu de filaments.
Concombre, forme levûre (culture peu intense).	Vin non chauffé, pas de filaments.
Marron d'Inde, — —	Salive pure, pas de filaments.
Melon, forme globulo-filamenteuse.	Lait, filaments très rares.
Abricot, forme levûre.	Touraillon liquide, filaments assez nombreux.
Gélatine-peptone, forme levûre.	Gélatine sucrée liquéfiée, filaments très nombreux.
Gélatine sucrée, —	Liq. de Nægeli pur, pas de filaments.
Touraillon gélatinisé, forme levûre.	Liq. de Nægeli sucré, filaments variables.

Mais il est indéniable aussi, comme le montre ce second tableau, que l'état solide ou liquide est un des éléments qui provoquent le changement de forme du champignon du muguet.

TOMATE CRUE		CAROTTE CUITE		CITRON CRU	
<i>Solide.</i>	<i>Suc.</i>	<i>Solide.</i>	<i>Décoction.</i>	<i>Tranche.</i>	<i>Jus.</i>
Forme levûre pas de filaments.	Quelques filaments.	Forme levûre filam. très rares.	Filaments beaucoup plus abondants.	Forme levûre pas de filaments.	Filaments très nets.

Les conditions, en effet, qui président à l'apparition de telle ou telle forme sont extrêmement complexes et réagissent à chaque instant les unes sur les autres.

Nous montrerons bientôt, M. Linossier et moi, quelle part importante il faut faire, dans cette question, à la nature et à la complication chimique de l'aliment, à la température, la lumière, la réaction du milieu nutritif, etc.

En ce qui concerne cette réaction, on constate sans étonne-

ment que l'*Oidium albicans* se développe très bien sur les milieux acides, mais on est quelque peu surpris de le voir très mal végéter sur les milieux très acides, tandis qu'il prospère très bien sur les milieux neutres ou même alcalins.

Concombre cru. — Acidité très forte. — Développement presque nul.

Citron cru. — Acidité très forte. — Développement très médiocre.

Tomate crue. — Acidité forte. — Développement assez accentué.

Betterave cuite. — Acidité assez forte. — Développement énorme.

Carotte cuite. — Acidité moyenne. — Développement énorme.

Pomme de terre cuite. — Acidité moyenne. — Développement énorme.

Gélatine-peptone. — Neutre. — Développement énorme.

Bouillon. — Neutre. — Développement très beau.

Touraillon. — Alcalin légèrement. — Développement très beau.

Ces constatations peuvent, au premier abord, sembler paradoxales, car l'on sait qu'il suffit pour débarrasser une bouche humaine du muguet de laver les muqueuses avec une eau alcaline quelconque. On pourrait donc penser *à priori* que les alcalins sont défavorables à la culture du muguet; or l'expérience prouve le contraire; nous montrerons dans notre mémoire comment ces contradictions ne sont qu'apparentes, et nous donnerons une explication des faits, basée sur nos recherches expérimentales, qui, nous l'espérons, satisfera entièrement l'esprit.

Je me contenterai d'ajouter, aujourd'hui, que nous avons pu, en élevant du muguet dans des solutions de saccharose, lui imprimer des caractères spéciaux, et produire notamment chez lui, une tendance à la filamentisation qui persiste pendant un grand nombre de générations et en fait en quelque sorte une race nouvelle, la glucose n'agissant absolument pas de la même façon.

La forme levûre du muguet constitue en outre un véritable ferment alcoolique au moyen duquel nous avons pu produire dans du moût de raisin l'alcool que je vous présente dans ce flacon, et qui possède une odeur aromatique et agréable que nous ne savons encore à quoi attribuer.

Enfin, je veux dès aujourd'hui signaler la découverte que j'ai faite d'une forme durable du champignon du muguet affectant la disposition d'une *Chlamydospore*, forme absolument inconnue jusqu'à présent, ou mal interprétée, et sur laquelle je donnerai prochainement à la Société les détails les plus circonstanciés.

Pour résumer, je dirai qu'actuellement le champignon du muguet me paraît, suivant ses habitats et certaines conditions de sa nutrition, passer par les trois phases suivantes :

- 1° Phase levûre exclusive ;
- 2° Phase globulo-filamenteuse ;
- 3° Phase sporifère,

dont l'existence me paraît indéniable.

M. le D^r BEAUVISAGE demande à M. Roux si les cultures vieilles de six à huit mois présentent toujours les mêmes caractères.

M. le D^r Roux lui répond que les caractères macroscopiques des colonies anciennes restent constants. Des études ultérieures apprendront si les propriétés actives du champignon ont été modifiées ou altérées. Il résulte des expériences déjà faites que ces anciennes cultures sont plus longues à se propager dans un nouveau milieu nutritif que les colonies récentes.

M. le D^r BLANC, à propos de l'alcool présenté par M. Roux, rappelle une communication faite à l'Académie de médecine, sur le microbe de la pneumonie contagieuse. Le milieu de culture prenait une coloration verte et dégageait une odeur aromatique donnée par un produit qui s'opposait à la putréfaction du liquide nutritif. L'odeur observée par M. Roux dans l'alcool ne serait-elle pas propre au champignon du muguet ?

Il demande, en outre, si les colonies de ce champignon présentent des caractères macroscopiques permettant de les reconnaître et de les différencier, lorsque l'on fait la dissociation pour avoir une culture pure.

M. le D^r Roux répond que l'odeur observée par lui n'a peut-être aucune analogie avec celle des cultures du microbe de la pneumonie contagieuse ; car l'alcool seul est odorant après la distillation. Aucune culture du champignon du muguet n'a encore donné d'odeur appréciable. A la seconde observation de M. BLANC, il répond que la distinction macroscopique des colonies est fort difficile, et que l'habitude seule peut donner quelques indications à ce sujet. Ces colonies sont moins arrondies, généralement légèrement sinueuses, irrégulières, et ne présentent pas de saillies considérables.

M. le Président annonce à la Société la mort de notre collègue, M. le D^r PERRAUD, professeur-adjoint à la Faculté de médecine et ancien président de notre Société. M. le Président fait son éloge et rend un juste hommage à l'homme que la science vient de perdre.

M. MERMOD, trésorier, demande que l'on nomme la Commission chargée de vérifier les comptes de l'année 1888. La Société désigne à cet effet :

MM. Saint-Lager,
Veulliot,
Kieffer.

La Commission rendra compte de son mandat à la prochaine séance.

SÉANCE DU 19 MARS 1889

PRÉSIDENT DE M. LE D^r L. BLANC.

Le procès-verbal de la précédente séance est lu et adopté.

La Société a reçu :

Revue des travaux scientifiques au Ministère de l'Instruction publique, VIII, 8, 9. — Journal de botanique, dirigé par M. Morot, III, 6. — Bulletin de la Société des sciences physiques et naturelles de Montpellier, II, 14. — Revue horticole des Bouches-du-Rhône, 415, 1889. — Revue savoisiennne, XXX, 3, 4. — Malpighia, II, 9, 10.

COMMUNICATIONS.

M. le PRÉSIDENT annonce que des instituteurs des environs de Lyon se sont adressés à la Société pour qu'elle leur procurât des herbiers classiques destinés à faire connaître quelques plantes à leurs élèves. M. le D^r BLANC a cherché aussitôt à donner satisfaction aux demandeurs, et grâce à la générosité de M. N. ROUX, qui a mis son herbier à contribution, il a pu former trois collections des plantes les plus usuelles et il les a offertes au nom de la Société. Il espère que ses collègues approuveront son initiative.

M. le D^r BEAUVISAGE félicite MM. Blanc et N. Roux de leur empressement et de leur générosité; il exprime l'avis que la