

J. KOŘÍNEK :

Intoxication par les microbes saprophytes chez les végétaux.

Notre problème était d'étudier le phénomène d'intoxication chez les plantes supérieures, de rechercher si ce phénomène existe, de quelle manière il se manifeste en général et surtout sur la production de plantes. Chez les animaux l'intoxication est très étudiée et même bien connue; il nous est venu à l'idée de rechercher s'il y a des analogies entre les plantes et les animaux à cet égard. Dans la bibliographie nous trouvons relativement peu de travaux traitant ces problèmes. PEKLO, qui a provoqué des tumeurs sur *Beta et Chrysanthemum* par le microbe de SMITH, dans son travail mentionne cette circonstance et depuis ce temps cela n'a pas beaucoup changé à cet égard.

Les plus importants travaux, concernant notre sujet, sont ceux de ZINSSER, WAGNER et BERTHOLD.

Nous avons injecté dans différents organes de *Vicia faba* le microbe saprophyte *Bacterium prodigiosum* et en pesant les plantes et observant leurs organes nous avons cherché, si et à quel degré les plantes sont endommagées, intoxiquées ou même infectées.

La méthode.

Comme matériaux nous nous sommes servis toujours de *Vicia faba* variété aux grandes semences. Je laissais les semences germer dans la sciure; quand les tiges étaient grandes d'un cm, je les ramassais, les lavais et décortiquais les cotylédons. Cela se fait facilement et je le faisais pour savoir si les cotylédons sont intacts. Les plantes aux cotylédons ainsi décortiqués ne peuvent pas être cultivées dans l'atmosphère trop sèche.

Naturellement nous avons choisi des exemplaires très peu différents l'un de l'autre par la grandeur. Puis nous avons décapité chaque plante et de la racine nous n'avons laissé qu'une partie de 3 cm, que nous avons mesurée assez précisément. Pour les dernières opérations nous avons eû ces motifs. D'abord la plante était ainsi très affaiblie et en conséquence plus sensible à l'influence des microbes. Puis comme cela durait assez

longtemps pour la plante de former de nouvelles tiges à l'aisselle des cotylédons, la plante était plus longtemps expoée aux microbes.

Et nous avons eû encore une raison : Les deux tiges qui se développent après la décapitation luttent corrélativement l'une l'autre, et plus les conditions sont pires, plus la différence entre elles est grande, de sorte que on peut juger au premier coup d'oeil, si les plantes se portent bien, ou non. (Voir : Kořínek : Sur la sensibilité...)

Les plantes étaient divisées en deux groupes à 15 exemplaires et ces deux groupes pesés pour constater, si leur poids n'était pas trop différents, puisque un groupe était employé pour l'expérience, autre pour le contrôle. Nous avons essayé par ces procédés d'éliminer l'influence individuelle des singulières plantes.

Chaque plante était cultivée à part dans une éprouvette, les parois de l'éprouvette étant mises entre le cotylédon et le hypocotyle. Dans 2—3 semaines j'ai ramassé les plantes, à savoir les deux tiges de chaque plante, et pesé. Par une division j'ai obtenu la quantité moyenne des plantes traitées et des plantes contrôlées.

Souvent j'ai pesé aussi les racines. Quelquefois j'ai fait deux récoltes. A savoir après avoir coupé les tiges, j'ai laissé les plantes croître plus longtemps, jusqu'à ce qu'elles aient formé des nouvelles tiges, provenant de nouveaux bourgeons axillaires.

Les expériences.

I.

Les plantes étaient cultivées dans des suspensions des bactéries.

Mon premier rôle fut d'essayer si la seule présence des bactéries dans l'eau provoquait sur les plantes quelques changements visible. *Bacterium prodigiosum* étant un microbe aquatique ne peut pas être endommagé par le milieu aqueux. Il est évident qu'il se trouve fréquemment dans des eaux et pourtant on ne connaît pas d'infections causées spécialement par ce microbe. Dans notre expérience il s'agissait de deux choses : D'abord *Vicia faba* cultivée dans l'eau, ne se trouvait dans son milieu naturel et il est suffisamment connu, que le milieu impropre affaiblit l'organisme et le fait moins résistent aux infections. Puis j'ai mis dans l'eau autant de microbes qu'il n'y en a jamais eu dans la nature, la suspension étant au premier coup d'oeil trouble.

Les expériences étaient tout simplement faites de manière qu'une série était cultivée dans l'eau pure, l'autre série dans la suspension riche en bactéries.

Les plantes étaient ainsi traitées pendant environ 3 semaines, mais il n'y avait aucune différence visible entre les deux séries. Elles pesaient à peu près également, il n'y avait de tumeurs ni sur les tiges, ni sur les racines, la coloration anormale n'était pas apparue.

Voici la table de résultats :

Poids moyens des plantes cultivées:

Série	dans l'eau		dans la suspension de microbes	
	tiges	racines	tiges	racines
I.	2'18	1'38	1'80	1'21
II.	1'83	1'10	1'95	1'30
III.	2'45	2'12	2'84	2'21
Somme . . .	6'46	4'610	6'59	4'72
En moyenne . . .	2'15	1'53	2'19	1'57

Resultat :

Bacterium prodigiosum contenu dans l'eau de culture ne produit d'influence, ni sur les racines, ni sur la plante en général.

II.

Les bactéries furent inoculées aux racines.

A) Les bactéries vivantes.

D'après les précédentes expériences on peu conclure que les bactéries n'ont pas la possibilité de pénétrer du milieu dans la racine intacte de la plante et d'y provoquer des changements pathologiques. A vrai dire, les racines des plantes dans les expériences précédentes n'étaient jamais intactes ; nous avons mentionné que nous avons abrégé les racines en les coupant à la même longueur. Alors *bacterium* se pourrait installer dans les cellules mortes et de la commencer l'infection. Eventuellement il pourrait pénétrer dans les trachées ouvertes ce qui se passe après ELLRODT; mais quoiqu'il en soit, l'effet n'était pas visible dans la production des plantes.

Nous avons essayé, quelle influence auraient sur la plante et spécialement sur les racines, les microbes artificiellement introduits dans son corps. Alors nous avons inoculé les bactéries directement aux racines.

Les expérimentations étaient faites de la manière suivante : Deux séries de plantes du même poids étaient préparées de façon décrite précédemment. Puis j'ai préparé une suspension de bactéries, l'ai versée dans une petite cuvette et mis la racine de plante dedans. Ensuite j'ai traversé la racine 10 fois avec une aiguille.

Ainsi les racines étaient presque remplies de bactéries. L'aiguille mouillée par la suspension, a pénétré dans la racine pleine de germes, puis quand on la retira de la plaie, la suspension était abaissée par la pression atmosphérique. L'expérience de contrôle était faite de la même manière, seulement au lieu de la suspension, nous nous sommes servis de l'eau pure. — Voici la table des résultats:

Poids moyens des plantes

Série	inoculées		non inoculées	
	tiges	racines	tiges	racines
I.	2'00	2'12	1'95	2'04
II.	1'83	2'40	1'60	1'96
III.	1'84	1'73	1'85	1'79
Somme . . .	5'67	6'25	5'40	5'79
En moyenne . . .	1'89	2'08	1'80	1'93

On pourrait croire que le microbe injecté était pour la plante favorable. Très probablement il n'en est pas ainsi. D'ailleurs ce ne serait rien d'étonnant, si les plantes injectées poussaient mieux, parceque la suspension contient toujours les traces de sels minéraux qui sont pour la plante très utiles.

Nulle part je ne pus observer qu'une tumeur se formait sous l'influence des piqûres, ou qu'une coloration rouge démontrait la présence de *Bacterium prodigiosum*.

Alors l'injection des microbes reste sans l'influence sur la production de plantes quant aux tiges quant aux racines qui dans notre cas ont été directement atteintes.

B) Les bactéries tuées par le chaud.

On pourrait croire que outre la possibilité d'attaque de la plante par le microbe, il existe encore une autre à savoir celle-ci d'une attaque du microbe par la plante. S'il n'est pas possible d'attaquer et de digérer le microbe vivant, on pourrait croire que la plante pourrait utiliser le microbe tué.

Alors nous avons répété l'expérience précédente, mais maintenant avec un microbe tué par une brève ébullition. Mais pas même dans ce cas je n'ai pas observer des différences dans la production des plantes.

La plante ne peut même pas utiliser les microbes tués.

III.

Le bactérium était injecté aux cotylédons.

A) Les injections furent faites par une seringue médicale.

Nous avons essayé l'influence de *Bacterium prodigiosum* sur les cotylédons de la plante. Nous avons estimé qu'il pourrait croître dans un organ qui contien tant des reserves, des matières hydrocarbonées, des amidons et des sucres formées par l'hydrolyse pendant la germination. Puis nous avons croyé que les cotylédons, comme les organes de reserve, passifs et condamnés à l'épuisement et destruction pourraient être moins résistent à l'infection, du moins quand ils commencent déjà à se flétrir et mourir.

Les injections étaient faites avec une seringue à une aiguille fine. Comme je l'ai dit, je me suis servis de *Vicia faba* comme sujet, à savoir la variété à grandes semences, dont les cotylédons sont assez grands pour que les injections s'y puissent effectuer. On pourrait croire qu'on ne peut pas faire des injection aux organes végétaux comme au corps des animaux ; peut être la chose n'est pas si facile, mais après quelque exercice on peut injecter aux cotylédons une quantité assez grande de la suspension. Il faut piquer parallèlement à la surface du cotylédon — pas perpendiculairement — et de préférence au centre de la partie la plus épaisse. Il faut piquer profondément parceque les tissus végétaux ne sont pas aussi élastiques que les tissus animaux, et le liquide pourrait s'écouler. A cause du manque d'élasticité on ne peut pas injecter très violement, autrement on pourrait briser les tissus. Quand nous injectons prudem-

ment, nous voyons comment le tissu change d'aspect d'abord aux environs de l'aiguille, puis en cercle sur toute la surface.

Le liquide naturellement ne pénètre pas dans les cellules, il ne se reprend que dans les espaces intercellulaires. A chaque cotylédon fut injecté à peu près 0.25 cm³ de la suspension et dans les plantes de contrôle la même quantité d'eau. La tige principale fut coupé et nous n'avons recolté que les tiges axillaires à l'aisselle des cotylédons.

Souvent j'ai fait deux récoltes à savoir après avoir coupé les tiges axillaires, j'ai conservé les plantes jusqu'au développement des tiges axillaires accessoires, pour donner le temps aux microbes d'attaquer le tissu mourant.

Nous n'avons jamais remarqué une différence de poids ni chez les tiges, ni chez les racines des plantes injectées et non injectées. Les cotylédons n'étaient jamais envahis par le *Bacterium prodigiosum*; jamais n'apparaissaient les tumeurs. Les différences peu remarquables nous faisaient juger que l'injection du microbe reste sans influence pour la plante.

B) Les injections furent faites avec des piqûres d'aiguille.

Outre les injections par le seringue, nous avons faites encore aux cotylédons les injections de la manière décrite au chapitre concernant l'influence sur les racines. Pour que les blessures fussent encore plus graves, nous avons fait les piqûres avec l'aiguille renversée. L'aiguille après avoir été noyée dans la suspension contient dans son trou un peu de liquide qui ensuite reste dans la blessure.

Pas même de cette manière nous ne pûmes observer quelque influence sur la croissance des plantes. Ce que nous avons observer, c'est les petites tumeurs en forme de cratères autour des piqûres qui commençaient à apparaître, quand les cotylédons étaient déjà très épuisés. Mais ces tumeurs apparaissaient dans la même quantité, grandeur et forme sur les cotylédons traités par l'eau pure. Il en résulte qu'il ne s'agit pas de l'influence de *B. prodigiosum* et il n'est pas nécessaire de s'en occuper pour notre but.

Voici la table des résultats :

Série	Poids moyens des plantes inoculées		non inoculées	
	tiges	racines	tiges	racines
I.	2.93	2.87	2.82	2.66
II.	2.96	3.27	2.89	3.33
III.	3.03	3.33	2.86	2.47
IV.	1.02	3.47	0.83	3.75
V.	0.83	3.12	0.76	3.22
VI.	2.13	—	2.15	—
VII.	1.98	—	1.94	—
VIII.	1.86	—	2.05	—
Somme . . .	16.74	16.06	16.30	15.43
En moyenne . . .	2.09	3.21	2.04	3.08

C) L'influence sur les plantes étiolées.

Nous avons estimé que l'exposition des plantes à l'obscurité pourrait être utile aux bactéries en même temps que la plante serait endommagée, ainsi que la possibilité de l'influence des bactéries sur la plante serait plus grande. Les plantes étaient traitées de la même manière que précédemment, mais non plus sous ces circonstances il n'y avait de différences de poids entre les tiges des plantes injectées et non injectées. A l'extérieur des plantes on ne pouvait non plus observer des changements pathologiques.

Alors pas même dans des circonstances si favorables pour les bactéries l'infection ou l'intoxication ne s'effectue.

IV.

Le phénomène des corrélations fut appliqué pour rechercher l'influence des bactéries.

En pesant les tiges on arrive à des résultats qui varient quelque fois assez considérablement pour qu'on puisse croire que les injections ne restent pas sans influence sur les plantes. Le résultat devient évident seulement quand on a fait une quantité considérable d'expériences.

Nous avons appliqué alors une autre méthode — celle des corrélations entre le cotylédon et son bourgeon axillaire. Tout brièvement soit dit: Quand nous décapitons la jeune plante, les bourgeons axillaires à l'aisselle des cotylédons commencent à pousser. Si l'un de cotylédons est exposé à des conditions différentes de celles de l'autre (diminué par exemple) les deux tiges axillaires ne se développent pas avec la même intensité (par ex. la tige axillaire du cotylédon enlevé pousse mieux). Les détails on trouve dans les travaux de DOSTAL et KORINEK.

Alors nous avons injecté un cotylédon avec la suspension de bactéries, l'autre avec de l'eau, et nous avons jugé: Si le microbe exerce une influence sur la plante, alors les tiges à l'aisselle de cotylédons injectés par les bactéries pousseront mieux ou pire que les tiges de cotylédons injectés par l'eau pure. S'il n'y a pas d'influence, dans 50% des cas poussera mieux cette tige (dont le cotylédon fut injecté par la suspension) dans 50% poussera mieux cette autre tige (dont le cotylédon fut injecté par l'eau pure).

La table des résultats:

Ont poussé mieux les tiges à cotylédons injectés par

Série	eau	suspension
I.	6	9
II.	18	12
III.	7	6
IV.	13	16
Somme . . .	44	43

Même cette expérience démontre que *B. prodigiosum* reste indifférent pour la plante.

Discussion des résultats.

Il s'en suit des précédentes expériences que la plante est absolument insensible aux microbes saprophytes injectés dans son corps. Les plantes se prennent à cet égard d'une toute à fait autre manière que les animaux. Si nous injectons à un animal un microbe, alors deux possibilités existent.

D'abord l'infection peut s'effectuer; à savoir le microbe reste vivant, se reproduit et se répand dans le corps de l'animal. S'il n'y a pas possibilité de se reproduire, du moins il agit sur le corps par les toxines qu'il forme ou qui se reproduisent par sa destruction. Dans ce cas nous parlons de l'intoxication, quoique les limites pour l'infection ne sont pas très précises.

Les phénomènes de l'infection et de l'intoxication sont dans la physiologie des animaux bien étudié et même connus, beaucoup plus que dans la physiologie végétale. Les plantes diffèrent des animaux par les cellules munies de membranes de cellulose et ensuite par ce que la plante manque du milieu centrale comme le sang et la lymphe communiquant dans tout le corps. Nous pourrions peut être même mentionner le système nerveux, qui fait le corps rapidement connaître que la matière étrangère est présente.

Après l'injection subcutanée chez l'animal les bactéries sont entraînées par la circulation lymphatique et pour la majeure partie apportées aux glandes lymphatiques ou ils sont détruites ou restent en vie, commencent à se reproduire et à causer l'infection.

Chez les plantes naturellement existe la possibilité de l'infection qui s'effectue de la manière assez analogue à celle des animaux (SRAUER, POTTER). Naturellement l'infection peut être causée seulement par les microbes capables de former des aggrégations contre les cellules végétales, surtout contre les matières dont la membrane cellulaire se compose.

Si nous injectons un saprophyte, alors les choses sont différentes chez les plantes et les animaux. Le corps de l'animal est en état de se priver des microbes injectés ou par la phagocytose, ou par la production des matières spécifiques comme les agglutinines, précipitines ou anti-toxines.

Chez les plantes on décrit aussi les phénomènes analogues. Par exemple KRITCHEWSKY a reçu chez *Cotylédon Scheideckeri* des agglutinines. WAGNER a obtenu les mêmes matières chez le *Solanum*. LUMIERE parle de phénomène anaphylactique observé sur le *Hyacinthus*.

Nous croyons qu'il y a très peu des travaux traitants ce problème, pour obtenir une opinion toute à fait claire.

Si nous injectons la suspension dans le corps végétal, celle-ci se reprend par la pression mécanique dans les cavités intercellulaires. Puis l'eau est resorbée par les cellules, mais les bactéries ne peuvent pas pénétrer n'étant pas comme les saprophytes munies des matières qui rendraient cette pénétration possible. Après la disparition de l'eau les microbes restent aux parois cellulaires, y persistent longtemps par leur vie latente.

Nos observations sont d'accord avec celles de BERTHOLD qui a constaté que les microbes injectés aux organes y restent en vie pendant quelque mois sans manifester leur présence d'une manière distincte.

Il est possible qu'ils vivent un certain temps des matières provenant des cellules écrasés par l'aiguille, peut être même se reproduisent, mais plus tard après la disparition de la nourriture, ils sont contraints à la vie latente, comme s'ils se trouvaient par exemple sur une pièce de verre.

La possibilité analogue existe, mais plus rarement chez les animaux. Chez les plantes la chose est d'une importance, puisque les microbes couvrants leur surface (BURRI, DÜGELLI), peuvent par les pores ou par les hydrotodes parvenir jusque' à l'intérieur des organes.

Alors nous estimons que nous avons démontré que l'intoxication par les microbes saprophytes n'existe pas chez les plantes, du moins d'une manière distincte et manifeste sûr la croissance de celles-ci.

*

Ce travail provient de l'Institut de physiologie végétale à l'Université Charles à PRAGUE, et je fais à son directeur professeur B. NEMEC mes meilleurs remerciements pour amabilité avec laquelle il a suivi mes recherches.

Praha, octobre 1922.

Bibliographie.

- Berthold: Zur Kenntnis des Verhaltens von Bakterien im Gewebe der Pflanzen. Jahrb. f. wis. Bot. Bd. 57. 1917.
- Burri: Die Bakterienvegetation auf der Oberfläche normal entwickelter Pflanzen. Centrbl. f. Bakt. II. Bd. 10. 1903.
- Dostál: Korrelační vztahy u klíčnicích rostlin Papilionaceí. Rozp. Čes. Akad. II. 1908.
- Dügelli: Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. Centrbl. f. Bakt. II. Bd. 12. 1905; Bd. 13. 1906.
- Ellrodt: Über das Eindringen von Bakterien in Pflanzen. Centrbl. f. Bakt. Bd. 9. 1902.
- Kořínek: Sur la sensibilité des corrélation chez les plantes. Bul. int. de l'Acad. d. scien. Praha 1922.
Res.: Arch. f. Entwmechanik 1922.
- Kořínek: O korrelacích mezi dělohou a úžlabním pupenem. Public. de la Fac. d. scien. d. l' Univ. Masaryk. Brno 1922.
Res.: Arch. f. Entwmechanik 1922.
- Krituhewsky: Über bakterielle Agglutinine und Praecipitine vegetabilischer Herkunft im Zusammenhange der Pflanzen, Immunitätskörper zu produzieren.
Res.: Centrbl. f. Bakt. II. Bd. 52. 1922.
- Lumière: Rôle des colloïdes chez les êtres vivants. Paris 1922.
- Peklo: Die pflanzlichen Bakteriosen. Die Naturwissen. 1913.
- Potter: Bakterien und ihre Beziehung zur Pflanzenpathologie. Centrbl. f. Bakt. II. B. 28. 1910.
- Sorauer: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Berlin 1905.
- Wagner: Über bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen. Centrbl. f. Bakt. II. Bd. 42. 1914.
- Zinser: Über das Verhalten von Bakterien, insbesondere von Knöllchenbakterien in lebenden pflanzlichen Geweben. Jahrbücher f. wiss. Bot. Bd. 30. 1897.