

DE LA PENICILLINE A LA PISCICULTURE

par Marcel LEFEVRE et Hedwige JACOB

Laboratoire de Biologie végétale de la *Station Centrale d'Hydrobiologie appliquée*

La découverte récente et l'application spectaculaire à la thérapeutique de la Pénicilline ont attiré l'attention d'un nombre considérable de chercheurs sur la compatibilité ou l'antagonisme qui peut exister entre les êtres vivants et, en particulier, entre les microorganismes.

A vrai dire, la question n'est pas nouvelle, et depuis PASTEUR on peut constater, en dépouillant la littérature spéciale relative à ce genre de travaux, que plusieurs chercheurs — PASTEUR en tête — avaient déjà remarqué que certains organismes étaient susceptibles d'entraver la prolifération d'autres organismes de groupes soit voisins, soit très éloignés.

Dès 1877, PASTEUR travaillant en collaboration avec JOUBERT avait, en effet, reconnu l'existence de l'antagonisme microbien en signalant que des cultures de *Bacillus anthracis* contaminées par certaines autres bactéries étaient arrêtées dans leur développement.

Il avait même pressenti tout l'intérêt que pouvait présenter cette constatation puisqu'il écrivait : « *Tous ces faits autorisent peut-être les plus grandes espérances au point de vue thérapeutique* ».

Certains avaient même déjà cherché à donner à ces connaissances des applications pratiques : en 1899, EMMERICH et LÖW tentèrent d'employer la pyocynase, produit du métabolisme de *Pseudomonas pyocyanea*, dans le traitement de la diphtérie et de la pustule maligne, tandis que d'autres chercheurs traitaient des néoplasies cancéreuses par la *nectrianine* extraite de cultures de *Nectria ditissima*, responsable du chancre de certains arbres.

I. — SUBSTANCES ACTIVES TIRÉES DES CHAMPIGNONS ET DES BACTÉRIES.

Il n'est pas inutile, croyons-nous, pour faciliter la lecture de la suite de cet exposé, de rappeler en quoi consistent les phénomènes d'interférence entre microorganismes.

Tous les êtres vivants se nourrissent, assimilent et excrètent. Leurs excréta ou, comme on dit encore, les produits de leur métabolisme, possèdent souvent des propriétés remarquables.

Ainsi, les produits métaboliques de la moisissure « *Penicillium notatum* » empêchent le développement de certaines Bactéries ou de certaines autres moisissures (Champignons inférieurs). Elle est active, comme on

dit, contre *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pneumococcus*, *Gonococcus*, *Meningococcus*, mais inactive contre *Bacillus anthracis*, *B. typhosus*, *B. coli*, *B. pyocyaneus*, *B. Dysenteriae*, *B. cholerae*, etc.

Les produits de métabolisme des microorganismes ont donc des propriétés spécifiques, c'est-à-dire qu'ils agissent uniquement sur certaines espèces bien déterminées et sont sans aucun effet sur les autres.

Par bonheur, les microorganismes produisent des substances actives très variées suivant leur espèce. On peut les comparer sous ce rapport aux plantes supérieures qui fournissent des substances médicamenteuses, chaque plante élaborant une substance ayant des propriétés bien particulières.

Comme la Digitale fournit la digitaline, le Persil l'apiol, la Belladone l'atropine, corps présentant des propriétés thérapeutiques très différentes, *Penicillium notatum* produit la pénicilline, *Bacillus subtilus* la subtiline, *Streptomyces griseus* la streptomycine, corps spécifiquement actifs contre des groupes de Bactéries différents, provoquant des maladies différentes.

Les excréta d'une Bactérie peuvent manifester leur activité vis-à-vis d'une autre Bactérie de trois façons différentes :

1° Ils peuvent simplement l'inhiber, c'est-à-dire arrêter plus ou moins complètement son développement : action dite « bactériostatique ». Dans ce cas, le développement reprend normalement dès que l'action des excréta cesse ;

2° Ils peuvent la détruire irrémédiablement, comme le ferait un poison violent : c'est l'action bactéricide ;

3° Enfin, ils peuvent au contraire exercer sur elle une action excitatrice favorable et activer considérablement sa rapidité de multiplication et de développement : action bactériodynamique.

Dans le premier et le second cas, on dit qu'il y a incompatibilité entre les deux bactéries ou encore antagonisme.

Dans le troisième cas, il y a effet stimulant.

L'activité des produits métaboliques d'un microorganisme sur un autre peut être telle qu'il suffise d'une quantité infime de ces produits pour obtenir un effet bactériostatique ou bactéricide. Ainsi, il suffit d'un milligramme de pénicilline pure, dissoute dans 82,5 litres de milieu de culture, pour entraver le développement de la Bactérie *Staphylococcus aureus*.

II. — APPLICATION DE CES CONNAISSANCES A L'AGRICULTURE.

Dans les sols, on a cherché à lutter contre les maladies cryptogamiques ou bactériennes des plantes par application de substances actives provenant de microorganismes antagonistes ou en favorisant directement dans la terre, la prolifération des antagonistes eux-mêmes.

En effet, si certains organismes vivant sur les plantes en parasites

pathogènes meurent dans le sol en quelques jours lorsqu'ils sont séparés de la plante-hôte, d'autres au contraire peuvent subsister pendant de longues périodes en vivant saprophytiquement et reprendre leur mode de vie parasite et néfaste lorsqu'ils se retrouvent en présence d'une plante qui leur convient et qu'ils attaquent.

La transmission se fait souvent par les Insectes.

Ophiobolus graminis est un parasite des grains de blé. De nombreuses bactéries ou champignons sont capables d'exercer une action antagoniste contre ce parasite. Le traitement peut s'effectuer soit par application de cultures vivantes des antagonistes, soit simplement de leurs filtrats.

La clavacine (ou patuline) extraite de la moisissure *Aspergillus clavatus* est fortement antagoniste de *Pythium* responsable de la pourriture des semences, et ceci à la dilution de 1/400.000.

Il suffit de développer dans un sol la moisissure *Penicillium expansum*, également productrice de patuline, pour en faire disparaître les *Pythium*.

L'introduction dans un sol de filtrats de cultures d'antagonistes ou de cultures d'antagonistes eux-mêmes n'est pas toujours efficace, soit parce que les filtrats sont détruits presque immédiatement dans le sol, soit parce que les inoculats de bactéries ou champignons vivants ne trouvent pas un milieu nutritif favorable à leur développement.

Il convient, dans ce cas, de créer ce milieu par introduction dans le sol de produits organiques convenables et favorables au développement des microorganismes antagonistes recherchés.

Ainsi, dans le Kansas, on lutte contre le piétin du blé en ajoutant au sol des feuilles et des chaumes de luzerne, de la farine de pomme de terre, de l'orge et du houblon bouillis, du fumier de poulet et de cheval.

Ces substances provoquent dans le sol une grande prolifération de microorganismes antagonistes de la maladie du piétin qui est alors inhibée.

On lutte de la même façon contre *Puccinia omnivorum*, la pourriture du coton.

La « Bactérisation » des semences, c'est-à-dire l'imprégnation par des Bactéries antagonistes de leurs parasites éventuels et le traitement des sols en vue de modifier dans un sens favorable leur population microbologique sont les méthodes qui ont reçu des applications véritablement pratiques en agriculture dans la lutte biologique contre les maladies des plantes.

III. — SUBSTANCES ISSUES DU MÉTABOLISME DES ALGUES D'EAU DOUCE.

Bien avant de connaître les travaux récents relatifs aux interactions entre microorganismes, nous avons reconnu à certaines Algues d'eau douce la propriété de sécréter des substances biologiquement actives, soit sur les Bactéries, soit sur d'autres espèces d'Algues.

En collaboration avec Maud NISBET, Chimiste, nous avons récemment entrepris une étude complète de la question, étude qui nous a déjà fourni des résultats importants.

De ces recherches, il ressort qu'un parallélisme étroit existe entre le comportement biologique des Algues et celui des Bactéries et Champignons inférieurs.

Ainsi, le filtrat d'une culture de *Phormidium uncinatum* (Algue Cyano-phycée) inhibe le développement d'un certain nombre d'autres espèces d'Algues ou, au contraire, favorise leur multiplication (celle de la Diatomée *Achnantes microcephala*, par exemple).

La Volvocale *Pandorina morum* nous a fourni deux substances actives, l'une thermolabile ayant un effet inhibiteur, voire même toxique sur certaines espèces d'Algues, l'autre thermostable, algodynamique pour un grand nombre d'autres espèces.

Depuis quatre années, nous cultivons ensemble deux espèces : *Cosmarium impressulum* et *Selenastrum minutum* qui se multiplient activement sans se nuire et sont parfaitement compatibles.

Au contraire, nous n'avons jamais pu cultiver simultanément *Chlorella pyrenoidosa* et *Pediastrum clathratum* var. *punctulatum*. L'une des espèces est donc antagoniste de l'autre.

Comme chez les Bactéries et les Champignons inférieurs, l'action des substances métaboliques actives issues des Algues est, en général, spécifique.

L'intensité de l'action favorisante ou inhibitrice dépend de la façon dont l'Algue est cultivée : composition du milieu de culture, température, éclairage, oxygénation, vitesse de développement et surtout phase de la culture au cours de laquelle on a opéré le prélèvement destiné au test.

D'autre part, on avait depuis fort longtemps remarqué que la multiplication d'un microorganisme dans une quantité donnée de milieu de culture se ralentissait puis s'arrêtait complètement au bout de quelques jours ou de quelques semaines. On attribuait cet arrêt du développement à l'appauvrissement progressif en sels minéraux du milieu de culture et à une carence d'éléments oligodynamiques.

On sait maintenant que ce phénomène est surtout dû à une auto-intoxication des microorganismes par concentration des substances métaboliques excrétées, et il suffit souvent d'ajouter à la culture bloquée une certaine quantité d'eau bidistillée pour la faire repartir.

L'eau bidistillée dilue, en effet, les produits toxiques, diminue de ce fait leur nocivité, et permet de nouveau la multiplication des organismes pendant un certain temps sans aucun apport complémentaire de sels nutritifs.

IV. — CONSÉQUENCES EN HYDROBIOLOGIE.

Tous les hydrobiologistes sont maintenant d'accord pour admettre que la vie animale dans les collections d'eau est sous la dépendance étroite des Bactéries, des Champignons inférieurs, et des Algues.

Donc, tout progrès dans la connaissance de la biologie de ces microorganismes conduit directement à une meilleure compréhension des phénomènes hydrobiologiques et apporte souvent une solution, au moins partielle, à certains problèmes restés en suspens.

Nous allons en passer en revue quelques-uns.

a) *Succession des flores algales dans les étangs.*

Au laboratoire, on constate qu'une même espèce se cultive bien, en culture pure ou simplement clonique unialgale, dans de nombreux milieux de composition chimique différente : milieux de Knopp, de Czurda, de Pringsheim, de Lefèvre, etc., etc.

On remarque cependant que, pour chaque espèce, la vitesse de multiplication n'est pas la même dans tous les milieux synthétiques.

Or, dans les collections d'eau stagnante naturelles, on retrouve presque toujours les mêmes sels dissous : ce qui varie c'est simplement leur proportion réciproque.

Donc, *théoriquement*, on devrait trouver les mêmes espèces d'Algues dans toutes les collections d'eau avec de simples différences de fréquence, les espèces les plus abondantes étant celles qui ont trouvé les proportions relatives de sels nutritifs convenant le mieux à leur multiplication.

On constate cependant qu'il en est rien : on peut dire que chaque mare, chaque étang, chaque lac présente une microflore qui lui est propre.

Les connaissances, acquises récemment sur les compatibilités et antagonismes entre microorganismes, donnent immédiatement la raison de cet état de choses : lorsqu'une espèce d'Algue trouve, dans une collection d'eau, des conditions physicochimiques qui lui conviennent parfaitement, elle se multiplie très rapidement et devient dominante. Ses produits métaboliques sont nocifs pour d'autres espèces d'Algues qui disparaissent alors ou sont au moins ralenties ou bloquées pour un certain temps ; ils sont au contraire algodynamiques pour d'autres espèces qui tendent alors à se multiplier rapidement, la plus favorisée devenant à son tour dominante.

D'où cette succession d'espèces dominantes différentes dans chaque étang au cours de l'année.

Cette explication est, du reste, très schématique, car, en réalité, d'autres phénomènes interviennent : influence des variations de facteurs physiques, interférence des autres microorganismes (Bactéries et Champignons) qui peuvent détruire les substances actives sécrétées par les Algues ou au contraire produire à leur tour des substances algostatiques ou algodynamiques. Enfin, influence des prédateurs : Poissons, Entomostracés, larves

d'Insectes, etc., qui peuvent modifier radicalement un équilibre qui tendait à s'établir entre microphytes.

Et ceci montre l'extrême complexité de la question !

b) *Limitation des espèces dans les étangs à « fleur d'eau ».*

Lorsqu'une espèce d'Algue rencontre dans une collection d'eau des conditions physicochimiques particulièrement favorables, elle peut proliférer avec une grande intensité au point de recouvrir l'eau d'un voile épais de quelques millimètres qu'on nomme « fleur d'eau ».

On remarque alors que, dans de tels étangs, le nombre des autres espèces d'Algues et surtout leur abondance sont extrêmement réduits.

De toute évidence, il y a encore là production par l'Algue « fleur d'eau » de substances algostatiques très actives qui détruisent ou bloquent les autres espèces.

Ces substances, souvent produites par des Cyanophytes, peuvent être tellement actives, chez certaines espèces, qu'elles sont toxiques pour les animaux supérieurs : moutons, dindons, etc., qui meurent rapidement après les avoir absorbées.

A. WURTZ a aussi signalé récemment le pouvoir bactériostatique d'une Cyanophycée de fleur d'eau (*Microcystis*) envers certaine bactérie anaérobie de la vase : *Clostridium bifermentans* (pathogène).

c) *Apparition et disparition d'espèces dans les étangs.*

Au cours d'une trentaine d'années d'observations suivies dans un certain nombre d'étangs, nous avons pu assister à l'apparition brusque et à la disparition d'espèces cependant établies depuis longtemps sans qu'aucune modification ait été apportée au régime de ses étangs.

Nous nous trouvons très probablement encore en présence de phénomènes dus aux interactions entre microorganismes.

Quoiqu'on en pense, les conditions nécessaires à l'introduction d'une nouvelle espèce dans une collection d'eau fermée sont assez rarement réunies. En admettant qu'une espèce puisse arriver vivante dans une collection d'eau (apportée par le vent, les oiseaux ou dans le seau à « vifs » des pêcheurs) il faut encore qu'elle trouve des conditions favorables pour se multiplier activement avant d'avoir été la proie des prédateurs : larves d'Insectes, Entomostracés, Poissons, Vers, etc.

Si l'Algue introduite se trouve en présence de substances algodynamiques pour son espèce, elle a des chances de s'installer.

Si, au contraire, elle rencontre des substances algostatiques elle a toutes les chances d'être bloquée et détruite avant d'avoir pu se multiplier.

Enfin, certaines espèces installées depuis plusieurs années peuvent disparaître complètement si une espèce antagoniste vient à se multiplier au point de devenir largement dominante. Elles sont, soit bloquées et détruites petit à petit par les animaux, soit soumises à une sorte d'autolyse.

d) *Phénomènes de substitution.*

Il arrive très souvent que, dans la nature, des espèces soient absentes de stations où toutes les conditions semblent requises pour qu'elles doivent se trouver..... ce qui fait d'ailleurs le désespoir des phytosociologues. Ceci peut s'expliquer soit par un défaut d'ensemencement naturel, soit encore par un effet d'antagonisme bactérien, fongique ou algal.

Mais il arrive aussi parfois qu'on rencontre des espèces dans des conditions très éloignées de leurs conditions écologiques habituelles. Il semble que certains facteurs biologiques compensateurs se soient substitués aux facteurs normaux pour permettre la prolifération de ces espèces. Ceci peut encore s'expliquer par le jeu des substances métaboliques comme le montre l'observation suivante :

Au laboratoire, nous cultivons de nombreuses espèces d'Algues dans le milieu dit « L + C ».

Chaque fois que nous essayons un antibiotique sur une espèce d'Algue, nous faisons un témoin en L + C.

Dernièrement, nous avons repiqué dans des boîtes de Pétri garnies de L + C plusieurs espèces d'Algues habituées depuis une quinzaine d'années à ce milieu dans lequel elles poussent très bien. Ces boîtes devaient servir de témoin.

Parallèlement et dans des boîtes identiques, nous avons ensemencé les mêmes espèces dans le même L + C auquel nous avons ajouté un métabolite d'origine algale dont nous voulions étudier les propriétés antagonistes éventuelles et provenant également de cultures d'Algues en L + C.

L'ensemble des boîtes ensemencées fut soumis aux mêmes conditions physiques (température et lumière) dans une même étuve.

Pour une raison que nous n'avons pas encore pu élucider, les témoins en L + C seul ne présentèrent, au bout de quelques jours, aucune multiplication, tandis que les boîtes contenant le métabolite surajouté au L + C présentaient une excellente multiplication des organismes.

Le métabolite avait donc compensé, par sa seule activité (en vertu probablement de la présence de substances excitatrices), la carence d'on ne sait quel facteur qui empêchait la multiplication normale des organismes dans ce L + C.

L'expérience fut répétée plusieurs fois avec le même succès.

Il n'est donc plus surprenant que, dans la nature, à la suite de prolifération massive d'une Algue dans une collection d'eau, d'autres espèces viennent s'installer en dehors de leurs exigences écologiques habituelles si elles trouvent dans les excréta de la première les facteurs compensateurs nécessaires.

V. — CONSÉQUENCES EN PISCICULTURE.

a) *Nanisme chez les Poissons.*

A la suite de différents travaux, surtout de curage et d'approfondissement, la flore algale d'un étang d'une quinzaine d'hectares situé dans la région parisienne fut complètement modifiée. De flore à Protococcales dominantes, elles passa à flore à Cyanophytes si abondantes qu'elles forment souvent fleur d'eau.

Depuis l'établissement de cette nouvelle flore, on constate que la population de Gardons blancs habitant l'étang s'est trouvée modifiée.

Leur nombre, si l'on en juge par les captures faites à la ligne, est toujours à peu près le même, mais leur taille a considérablement diminué : elle n'atteint plus guère que le $1/3$ ou au plus la moitié des dimensions primitives.

Ces mêmes poissons, transportés dans un étang voisin dépourvu de Cyanophytes, y créent une population normale, florissante, en quelques années.

Si on se rappelle que le Gardon blanc adulte se nourrit presque uniquement d'Algues, dans les stations naturelles, et que, dans la pièce d'eau à Cyanophytes, ils n'ont que celles-ci à leur disposition (ils l'utilisent du reste abondamment, comme le montre l'examen de leurs contenus intestinaux), on est immédiatement conduit à conclure que le nanisme observé dans cette population de Gardons est imputable aux produits métaboliques élaborés par les Cyanophytes.

Nous n'avons du reste, depuis une quinzaine d'années, observé aucun fait pouvant infirmer cette hypothèse.

b) *Action parfois décevante des engrais.*

On sait que, pour augmenter le rendement des étangs, il est d'usage d'y ajouter des engrais naturels organiques (fumier, purin, déchets divers) ou artificiels minéraux (superphosphates, scories de déphosphoration, nitrates, etc.).

Le processus d'amélioration est *grossomodo* le suivant : les engrais apportent des substances nutritives solubles qui favorisent la prolifération des Algues. Les petits animaux aquatiques herbivores, en particulier ceux du zooplancton, sont donc mieux nourris et se multiplient beaucoup plus rapidement.

Les poissons, dont les $9/10^e$ sont carnivores, profitent de cette augmentation de nourriture et grossissent plus vite dans le même temps, d'où amélioration du rendement.

En fait, il n'en est pas toujours ainsi, et ceci pour les raisons suivantes :

La loi du minimum joue en aquiculture comme en agriculture. Il ne suffit pas d'ajouter des quantités importantes d'engrais phosphatés ou

nitratés à un étang pour que son rendement suive une courbe parallèle : si un élément essentiel à la vie des Algues manque (parfois même un oligélément), on pourra ajouter tous les engrais possibles en pure perte : le rendement n'augmentera pas.

Pour que l'augmentation des Algues du Phytoplancton soit favorable à l'amélioration du Zooplancton (et par suite aux poissons), il faut que les Algues produites constituent une nourriture acceptable pour ce Zooplancton. Il faut qu'elles soient petites, unicellulaires, au plus cénobiales, et qu'elles se digèrent facilement.

Or, il arrive assez souvent que les engrais provoquent un pullulement d'Algues filamenteuses (*Spirogyra*, *Cladophora*, *Zygnema*, etc.) absolument impropres à être consommées par le Zooplancton. Ces Algues sont alors parfaitement nuisibles parce qu'elles ne nourrissent pas les animaux (un peu, peut-être, lorsque certaines d'entre elles libèrent des zoospores), parce qu'elles entravent leurs mouvements et surtout parce qu'elles empêchent la prolifération d'espèces utiles par concurrence nutritive et par libération de substances algostatiques.

Or, dans l'état actuel de la science, on ne peut absolument pas prévoir ce qui se passera lorsqu'on introduit des engrais dans une pièce d'eau inconnue.

Les engrais agissent sur la flore bactérienne, fongique, et algale simultanément et les métabolites de ces trois catégories de microorganismes interfèrent.

La résultante de ces interférences peut être la production d'une flore algale favorable, très favorable ou défavorable.

On conçoit donc tout l'intérêt qu'il y aurait à pouvoir agir directement sur la flore algale d'une collection d'eau pour faire disparaître les espèces nuisibles et faire proliférer les espèces utiles.

Or, *scientifiquement*, on peut considérer la chose comme désormais possible. Il suffirait de connaître les substances antibiotiques spécifiques susceptibles d'inhiber ou même de détruire les Algues indésirables ainsi que les substances susceptibles d'accélérer la croissance des Algues utiles.

On sait qu'il suffirait de répandre dans l'eau une substance antagoniste des filamenteuses pour les voir disparaître. On épandrait ensuite une substance favorisante des Protococcales ou des Volvocales, par exemple, pour les faire proliférer. Ces substances pourraient être tirées de Bactéries, de Champignons ou d'autres Algues.

RÉALISATION PRATIQUE.

L'application à la pisciculture des connaissances acquises dans le domaine des antibiotiques est-elle dès maintenant possible ?

Non ! parce que la plupart des substances actives doivent être actuelle-

ment tirées des organismes eux-mêmes et qu'on ne sait pas encore en faire la synthèse. Leur prix est donc infiniment trop élevé.

Mais il ne faut pas désespérer. Il y a quelques années, on achetait les hormones au gramme tant leur prix était élevé. Maintenant qu'on a réussi à faire la synthèse industrielle de certaines d'entre elles, on les utilise couramment en agriculture comme *désherbants sélectifs*.

On réalise du reste, dans les champs, avec les hormones et engrais exactement ce que nous proposons de faire dans les étangs avec les métabolites microorganiques : destruction des plantes concurrentes indésirables par les hormones, puis stimulation des plantes utiles par les engrais.

Sans attendre la production industrielle, par synthèse, des substances algostatiques et algodynamiques spécifiques, solution évidemment la plus élégante, il serait peut-être possible de trouver dans l'arsenal des corps chimiques actuellement connus des substances douées de propriétés algostatiques sélectives.

On a utilisé en médecine les propriétés antibactériennes sélectives des sulfamides, d'origine purement chimique, bien avant de connaître les bactériostatiques d'origine biologique : pénicilline, streptomycine, thyrotricine et autres.

Quoiqu'il en soit, et malgré l'aveuglement de certains qui considèrent l'étude de ces questions comme des « amusettes » sans conséquences, nous persistons à croire que l'étude des compatibilités et antagonismes entre êtres vivants est aussi importante pour les œuvres de vie que la fission nucléaire peut l'être pour les œuvres de mort.

Et ce n'est pas peu dire !
