

50376
1961
214

50376
1961
24

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DES SCIENCES

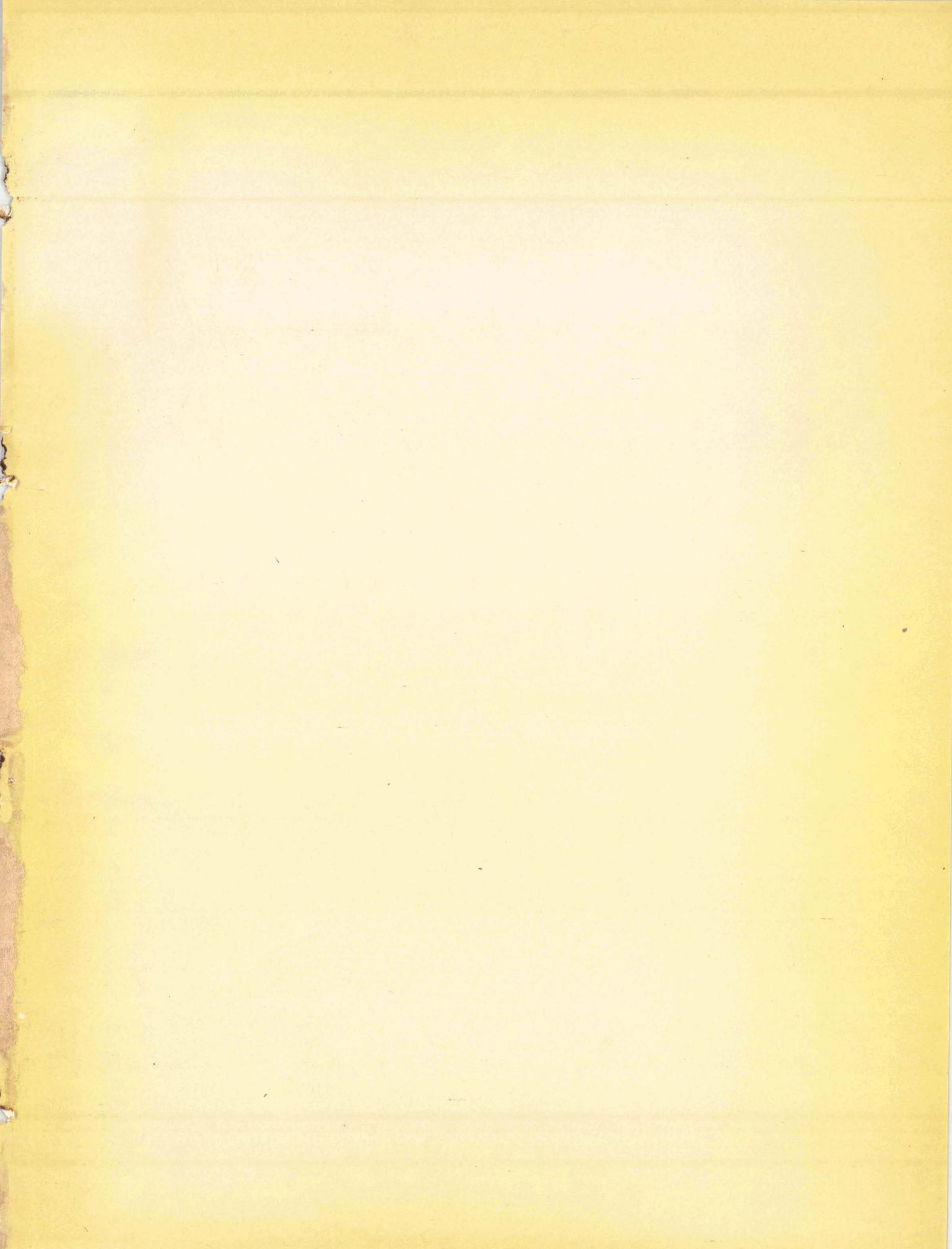
Mémoire présenté en vue de l'obtention
du Diplôme d'Études Supérieures de Sciences Naturelles
(Physiologie végétale)



**ACTION DES CARBONATES ET DES
COMPOSÉS AZOTÉS ET SULFURÉS SUR LE
DEVELOPPEMENT D'UNE FERROBACTERIALE**

Soutenu à LILLE en mai-juin 1961 par
LAVENDE JEAN-CLAUDE





50376
1961
24

UNIVERSITE DE LILLE
FACULTE DES SCIENCES

50376
1961
24

Mémoire présenté en vue de l'obtention du
Diplôme d'Etudes Supérieures de Sciences Naturelles
(Physiologie végétale)

ACTION DES CARBONATES ET DES
COMPOSES AZOTES ET SULFURES SUR LE
DEVELOPPEMENT D'UNE FERROBACTERIALE



Soutenu à Lille en Mai-Juin 1961
par LAVENDE Jean-Claude

INTRODUCTION

Parmi la microflore bactérienne des argiles de grottes Caumartin a isolé "une bactérie de 0,5 μ de largeur et de 1,5 μ de longueur, parfois arquée mais toujours fortement renflée aux 2 extrémités, ce qui lui donne un aspect géminé caractéristique". Sous le microscope, en milieu liquide, son grand axe est presque toujours perpendiculaire au plan d'observation et elle est agitée de mouvements rapides sur place au cours desquels elle s'incline légèrement prenant alors l'allure d'un coccus ourréolé ou d'une poire.

Dans son milieu naturel cette bactérie est microaérophile.

Elle a été retrouvée dans des sédiments variés tels que la craie sénonienne de Picardie, la "terra rossa" de Provence, la limonite en place et même sur des substrats tels que la rouille et le carbonate de fer des laboratoires.

Ne s'apparentant à aucune autre bactérie connue, il en a été fait un genre et une espèce originale ; *Perabacterium spelei*.

Cette bactérie a déjà fait l'objet d'un Diplôme d'Etude

des Supérieures soutenu à la Faculté des Sciences de Lille
par N. Potelle en 1960.

Cet auteur avait commencé l'étude de la composition
d'un milieu synthétique comprenant des substances minérales
et organiques.

C'est la continuation de ce travail qui constitue
le sujet de notre diplôme.

Les caractéristiques du milieu établi précédemment
sont les suivantes :

3cc d'une solution de PO_4HK_2 au 1/1000

5	-	-	-	- SO_4Mg	- 1/100
I	-	-	-	- ClNa	- 1,5/1000
I	-	-	-	- SO_4Mn	- 1/10 000
15	-	-	-	- SO_4Fe	- 1/10
I	-	-	-	- $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$	0,5/10 000
I	-	-	-	- CIK	- 1/10

3cc de bouillon de pommes-de-terre

0,3g de peptone

Notre travail consistait à vérifier sur ce milieu
l'action de substances chimiques telles que : Carbonates -
Nitrates - Sels d'ammonium - Sulfures, à établir un milieu
idéal à partir des résultats trouvés, puis à expérimenter les
rayons ultra-violets comme moyen de stérilisation.

TECHNIQUE OPERATOIRE

Nous avons fait tous nos essais à partir du milieu établi dans le Diplôme de N. Potelle.

La souche de *Perabacterium spelei* était tirée d'une vieille réserve de carbonate de fer du laboratoire selon la technique dite des mousses.

Dans un petit becher contenant la moitié d'eau distillée, on ajoute une pointe de canif de carbonate et autant de savon de Marseille stérilisé ; le becher est maintenu rigide par 2 machoires en caoutchouc et l'on y introduit une palette rotative mue par un moteur électrique.

Au bout de 2 à 3 minutes on obtient à la surface du liquide une mousse extrêmement riche en bactéries ; cette mousse prélevée avec une pipette, et diluée dans de l'eau distillée, nous a servi de souche à raison de 5 gouttes par tube.

Protégé par une gaine plus ou moins imprégnée de sels ferriques, le *Pérabactérium spelei* présente la particularité de résister à l'autoclave à 130°, ce qui nous permettait de stériliser nos tubes pendant 20 minutes à 130° directement après ensemencement et d'éli-

miner ainsi tout autre organisme que le Perabacterium Spelei.

Puis les tubes étaient mis à l'étuve à 28° pendant 10 jours.

Pour le comptage nous avons utilisé une cellule de Thomas. Sur celle-ci nous déposons 1 goutte calibrée du milieu et nous recouvrions d'une lamelle optiquement plane.

Nous avons compté chaque fois 16 carrés de la cellule de Thomas, il nous suffisait ensuite de faire une moyenne.

Pour chaque tube, nous avons effectué un comptage en surface et un en profondeur à environ 1 cm du fond.

La méthode utilisée pour la préparation du milieu a varié selon les substances que nous avions à étudier.

Pour les carbonates nous avons ajouté directement les quantités nécessaires pesées à la balance de précision du laboratoire.

Pour les autres substances, nous avons réalisé tout d'abord une solution obtenue en ajoutant à 50cc d'eau désionisée, une quantité de la substance égale à :

Poids moléculaire X 30
20 X 100

L'addition d'1cc de cette solution dans nos tubes y amenait la substance à une concentration de 10^{-2} , pour

les autres concentrations il suffisait de procéder par dilution au dixième.

Pour conserver les 30 cc initiaux dans nos tubes, nous leur ajoutions dans leur préparation, au lieu de 15 cc de SO_4Fe au dixième, 14 cc d'une solution préparée en ajoutant 15g de SO_4Fe à 140 cc d'eau au lieu de 150.

Remarque : Pour chaque essai seule la référence à un tube témoin pouvait permettre d'aboutir à des résultats exploitables car la croissance elle même est une fonction exponentielle du temps. On aboutit au bout de 10 jours à un état d'équilibre, lié au milieu, dont nous avons seul à tenir compte, car en effet nous n'avions pas à nous préoccuper de la rapidité avec laquelle la culture se développe, mais seulement du résultat du développement.

CARBONATES

Nous devions vérifier l'action des carbonates de calcium et de magnésium.

Nous avons procédé en ajoutant dans des tubes préparés avec le milieu de Potelle les quantités de carbonates suivantes :

I mg puis 10.20.30.40.50.60.70.80.90 et 100 mg
puis 150.200.250.300.350.400.450.500.550.600.650.700.750.
800.850.900 et 950 mg
puis 1.2.3.4 et 5 g.

Etant donné les différences importantes entre ces poids nous avons utilisé pour la représentation graphique du papier semi-logarithmique et nous avons ainsi porté en abscisse les logarithmes des poids de carbonate.

CO_3Ca (sauf pour les 2 premiers tubes nous avons toujours dilué nos prélèvements au I/I0)

CO_3Ca en mg	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
I	20.I6.I5.27.32.29.20.20 20.26.37.I7.24.23.I8.I7	22,6	26.24.23.25.I9.I5.I6.25 I9.I9.I4.I2.I6.20.23.I5	I9,4
I0	36.37.44.40.38.32.28.33 27.38.35.38.26.29.35.33	34,3	I7.25.25.I9.I5.27.24.26 24.23.27.22.20.I7.I8.20	22,4
20	3.2.3.6.5.3.4.3. 6.5.4.9.5.7.5.4.	46	7.2.3.3.3.3.5.4. 2.4.2..3.I.II.2	37,5
30	6.7.8.6.8.7.6.5. 8.8.5.4.7.8.I0.I2	72	6.5.4.3.6.2.I.4 5.3.3.5.6.I.5.5.	40
40	8.9.II.I0.9.8.4.5. 6.9.I0.7.3.9.5.7.	75	5.6.6.3.7.5.0.6 9.4.4.6.3.5.4.3.	47,5
50	I2.9.I2.7.I2.6.I5.I0 3.6.6.6.I5.I4.I4.II	93	3.8.4.5.4.6.5.I0 6.4.5.5.6.4.3.6.	52,5
60	II.I0.II.9.8.I0.I4.9 II.I2.I6.9.8.6.I0.I0	I02	8.6.5.4.3.4.5.7 8.3.7.7.4.7.5.9	57,5
70	I5.I0.9.II.I0.I4.I5.I0 II.8.I2.I0.I0.I0.I5.II	I03	I5.7.8.5.8.I0.9.II 3.I0.7.7.8.9.8.I2	85,8
80	I4.8.I0.I2.6.I0.II.II II.I2.I0.I0.I2.I3.I0.I3	I08	I4.I0.I2.8.7.7.8.6 9.I0.6.7.8.I0.5.9	86
90	I8.7.7.6.II.I2.II.II I0.II.I2.I2.I0.9.I4.II	I07	I4.7.8.5.7.8.9.9 6.I0.8.9.6.7.I2.I0	84
I00	I4.I3.5.7.I0.9.II.6 6.8.I3.II.9.I4.I6.II	99	I0.4.5.3.9.8.I.I4 I2.7.5.8.9.5.9.7.	75



CO₃Ca (Suite)

I50	IO.II.I0.8.II.I0.I2.8 I2.I4.7.9.8.II.6.9	96,8	II.5.8.I.I5.I0.7.9. 5.7.9.6.I2.7.6.8	78,7
200	IO.9.8.I4.5.I4.I5.I0 I2.9.8.I0.9.I0.9.9	I00	8.9.8.I0.4.2.9.II I0.8.7.8.7.I2.9.7	79
250	II.II.4.9.8.I5.II.II 9.9.I0.II.II.I0.9.9	98	7.7.5.9.6.7.8.8 8.7.I0.9.8.7.6.7	74
300	4.I4.9.I0.I4.II.8.5 9.I0.I2.I0.7.8.I3.9	95	7.7.8.6.7.9.8.I0 9.9.4.7.6.7.9.8	75
350	IO.I2.8.II.II.I0.I0.I2 8.II.8.I3.I3.8.II.I2	I05	8.6.9.9.6.8.6.6 6.8.2.9.8.7.6.8	70
400	IO.I7.9.7.8.II.9.7 8.I3.I2.9.8.I0.7.I0	97	5.3.I0.II.9.6.6.7 9.8.6.8.6.9.II.4	73
450	4.I0.I2.I0.9.7.20.I4 3.9.I4.8.6.8.I5.7	97,5	7.I0.8.7.6.7.I0.5 8.II.8.4.9.I0.2.5	73
500	I3.9.I0.9.8.I4.8.I3 9.I0.8.I0.9.I2.I0.9	I00	5.9.6.7.3.8.9.I0 4.2.8.8.4.8.6.5	65
550	7.II.I2.7.II.I0.9.II 7.I4.8.I2.II.I0.9.9	98	5.8.8.8.9.5.7.6. I0.9.7.4.8.8.2.II	70
600	I2.I0.I2.I2.I3.6.I0.9 7.I5.I2.8.I0.9.I0.9	95	4.I0.6.8.5.2.8.3 4.8.8.6.5.9.7.I0	64
650	I2.I7.I0.6.8.5.8.I3 8.8.9.7.4.9.I7.I4	96	6.5.7.I0.6.II.6.I5 6.6.5.5.4.I0.3.I0	71

Dilution I
10



CO₃Ca (Suite)

Tous les tubes sauf le témoin dilués au $\frac{1}{10}$

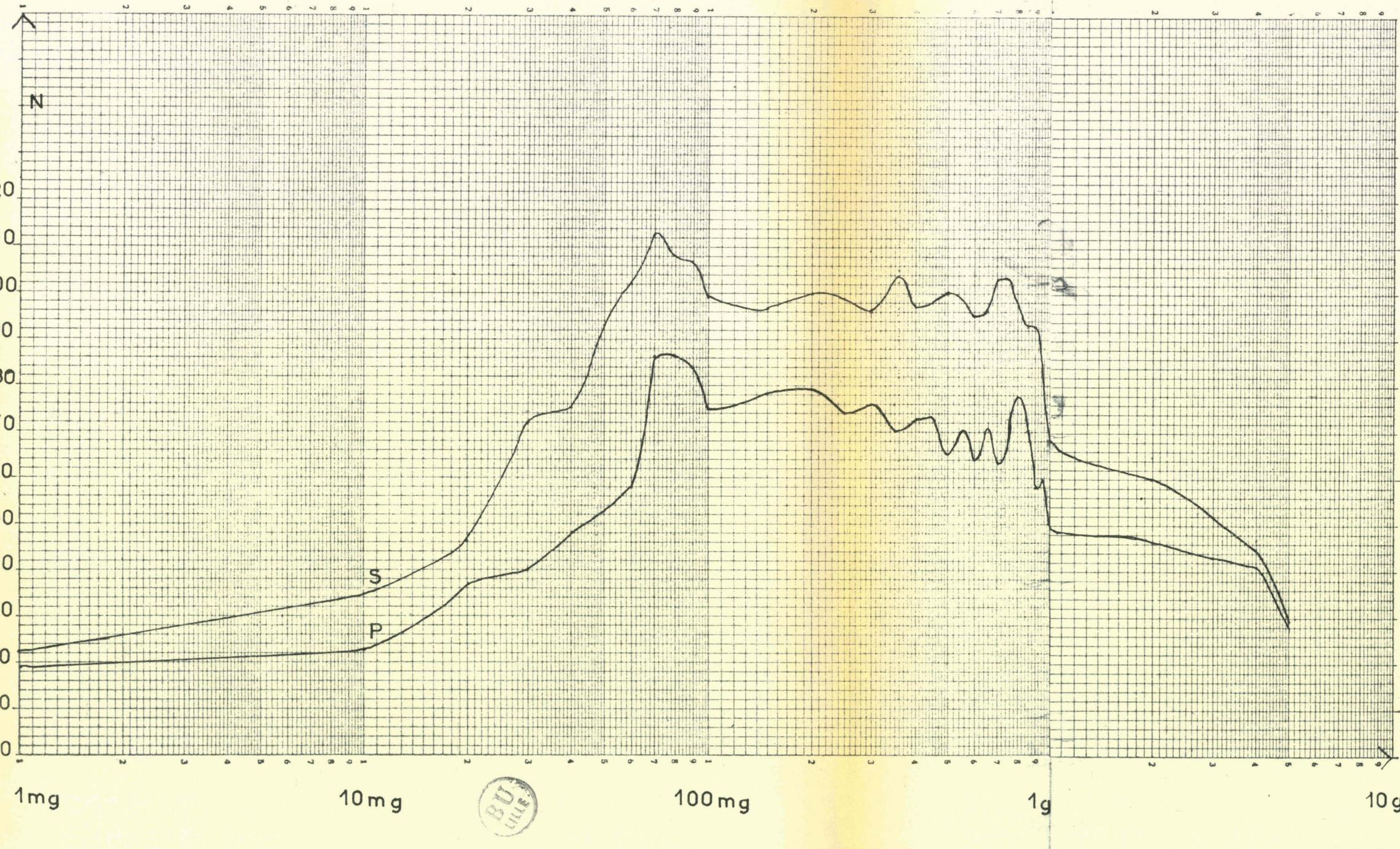
700	6.I0.8.I3.I0.6.II.9 I2.I3.I0.8.I0.I2.I7.II	I03	4.9.5.I0.8.7.4.4 7.II.5.2.7.4.9.6	63
750	I2.8.I2.II.I0.I2.I0.II 8.5.I6.II.5.I0.I3.I2	I03	8.8.4.2.2.8.I0.9 I0.7.8.8.8.8.7.I0	73
800	I0.6.I4.5.I2.9.8.I6 9.9.8.6.I5.I0.I2.9	98	7.6.5.6.I4.9.I0.3 I2.3.2.7.3.20.I2.5	77
850	I0.5.I2.8.I4.5.8.9 7.5.7.I0.I0.7.7.25	93	6.6.7.5.9.I7.4.5 8.5.6.3.5.9.3.I3	70
900	I2.9.7.8.I0.II.9.7 5.7.I0.I4.I0.8.I4.8	93	4.5.0.8.4.6.2.5 6.8.9.6.II.5.4.I0	58
950	I0.8.I0.4.8.9.9.8 4.I3.I0.3.I2.8.II.6	83	6.6.2.5.3.2.9.6 II.4.8.II.9.7.6.2	60
1000	5.II.7.7.5.3.9.8 6.4.4.8.7.6.I0.I0	68	4.II.0.4.6.2.8.6 7.5.4.2.4.3.6.7.	50
2g	5.7.7.0.10.8.0.7 I0.2.II.0.5.8.II.6	60	4.9.4.7.8.5.2.2 7.5.35.8.0.0.5	46
3g	4.5.4.I.7.4.7.2 5.I0.9.2.3.8.7.6	52,5	3.3.2.6.5.7.0.3 9.9.0.3.2.8.7.I	42,5
4g	4.2.I.3.5.4.8.8. I.I0.5.I.5.4.I0.3	45	6.4.2.4.2.3.5.3. I0.5.3.0.8.9.3.0	41,8
5g	3.I.0.2.4.0.4.3 0.I0.I.4.7.3.0.4.	28,7	0.2.I.I.I.5.2.0 3.2.7.8.I.4.7.0	27,5
TEMOIN	I8.24.I5.30.17.I3.32.33 30.I9.25.26.29.32.3I.27	25	3I.I8.6.I4.I9.26.3I.28 27.25.25.I9.I8.6.I2.I7	20

QUADRILLÉ SEMI-LOGARITHMIQUE A 3 MODULES

CARBONATE DE CALCIUM

TOCHON - LEPAGE - PARIS

TOCHON - LEPAGE - PARIS



Interprétation des résultats.-

Il y a un palier au départ qui correspond à des quantités de CO_3Ca insuffisantes pour mobiliser dans des proportions satisfaisantes le fer ferreux ; puis il y a ascension nette de la courbe jusqu'à 70 mg de CO_3Ca , ensuite il y a une légère baisse qui nous amène à ce que l'on peut considérer comme étant aussi un palier jusqu'à 0,8 g.

Des doses supérieures s'avèrent nocives.

C'est donc que le CO_3Ca est utile au développement du *Perabacterium* et que son optimum se situe vers 70 mg pour nos tubes.

L'existence du second palier s'explique par le fait que la tension nécessaire à la mobilisation du Fe^{++} sous la forme CO_3Fe est atteinte, le calcium n'étant pas toxique à ces doses ; la bactérie trouve donc des conditions satisfaisantes à son développement pendant un intervalle assez étendu.

Au delà de 1 g le milieu est saturé et l'équilibre carbonate \rightleftharpoons bicarbonate $\rightleftharpoons \text{CO}_2$ est rompu, alors l'ion Ca^{++} intervient par sa toxicité.

CARBONATE DE MAGNESEUM

CO ₃ Mg en mg	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
I	4.I.3.3.6.I3.8.7.I0 I0.I2.I5.8.II.9.I0.20	105	I7.I8.9.0.II.I0.I5.0 I2.I5.I3.2.5.I0.9.I0	95
10	I6.26.I9.I4.28.26.25.I0 I5.I6.24.I5.25.20.34.I8	206	20.9.I6.I9.I9.I6.27.I4 20.I5.22.22.20.I8.25.I4	180
20	I5.23.25.I8.30.23.I7.35 20.2I.25.22.26.28.24.27	235	I3.25.I5.20.I0.26.29.I7 I8.I3.28.27.30.I8.I5.I9	200
30	20.24.I6.I3.25.28.20.I9 2I.I5.27.2I.20.26.28.20	220	I5.I2.28.I7.I8.22.20.15 I8.I9.I6.I7.22.I8.23.I7	198
40	2I.26.I8.20.23.I8.20.I5 20.32.I8.22.20.28.I7.28	216	I3.28.I2.I2.I0.2I.I4.I7 24.I5.I5.I8.I5.I8.I2.I8	170
50	I5.I2.8.II.I8.24.I3.I4 9.II.I6.18.24.I7.I4.I8	151	I0.8.I2.II.I4.I5.I3.I0 I4.I2.12.I0.20.22.8.II	126
60	I0.9.8.6.I3.I3.I0.II I2.II.8.I0.7.I9.8.5	100	II.I0.5.I4.8.II.7.I3 I0.3.6.I4.8.8.I7.I3	98
70	8.4.6.7.4.I3.4.I5 I0.I0.8.9.4.7.7.5	80	0.5.II.4.6.7.9.4 8.9.8.7.I2.4.I0.6	68
80	9.I7.4.I4.I5.5.I2.35 I0.I6.5.I2.I6.I0.I8.I5	13,6	7.I2.5.4.8.4.6.5 I2.I0.5.4.8.9.7.6	6,8
90	I0.3.4.II.I2.3.2.7 II.6.2.8.20.I0.7.5	7,5	4.3.6.8.I2.4.I4.2 7.I0.5.8.6.I0.7.6	6,7
100	5.2.5.4.3.2.I.0 8.3.4.5.9.5.38	4,2	5.3.02.I0.7.3 2.I.8.I.4.0.38	3,4

Tous les tubes sauf les 3 derniers étaient dilués au $\frac{1}{10}$



NON DILUES

150	7.I4.7.9.8.6.7.8 6.I5.8.7.7.8.II.5	8,3	3.7.4.5.4.8.7.8 II.I0.5.8.6.9.8.5	6,7
200	3.4.30.3.28.4.20.2 2.5.I.I2.I8.8.I9.II	10	3.4.3.9.3.3.0.I5 7.3.I3.7.4.2.5	5

Tous les autres tubes se sont révélés ne contenir pratiquement plus de bactéries.

Le milieu de culture dans ces tubes était d'ailleurs limpide au bout de 10 jours.

NON DILUE

TEMOIN	3I.24.32.28.27.23.28.33 29.32.25.24.32.28.34.I9	28	I3.I7.18.6.I7.2I.25.2I I2.I8.9.28.I8.I6.29.27	I9
--------	--	----	--	----

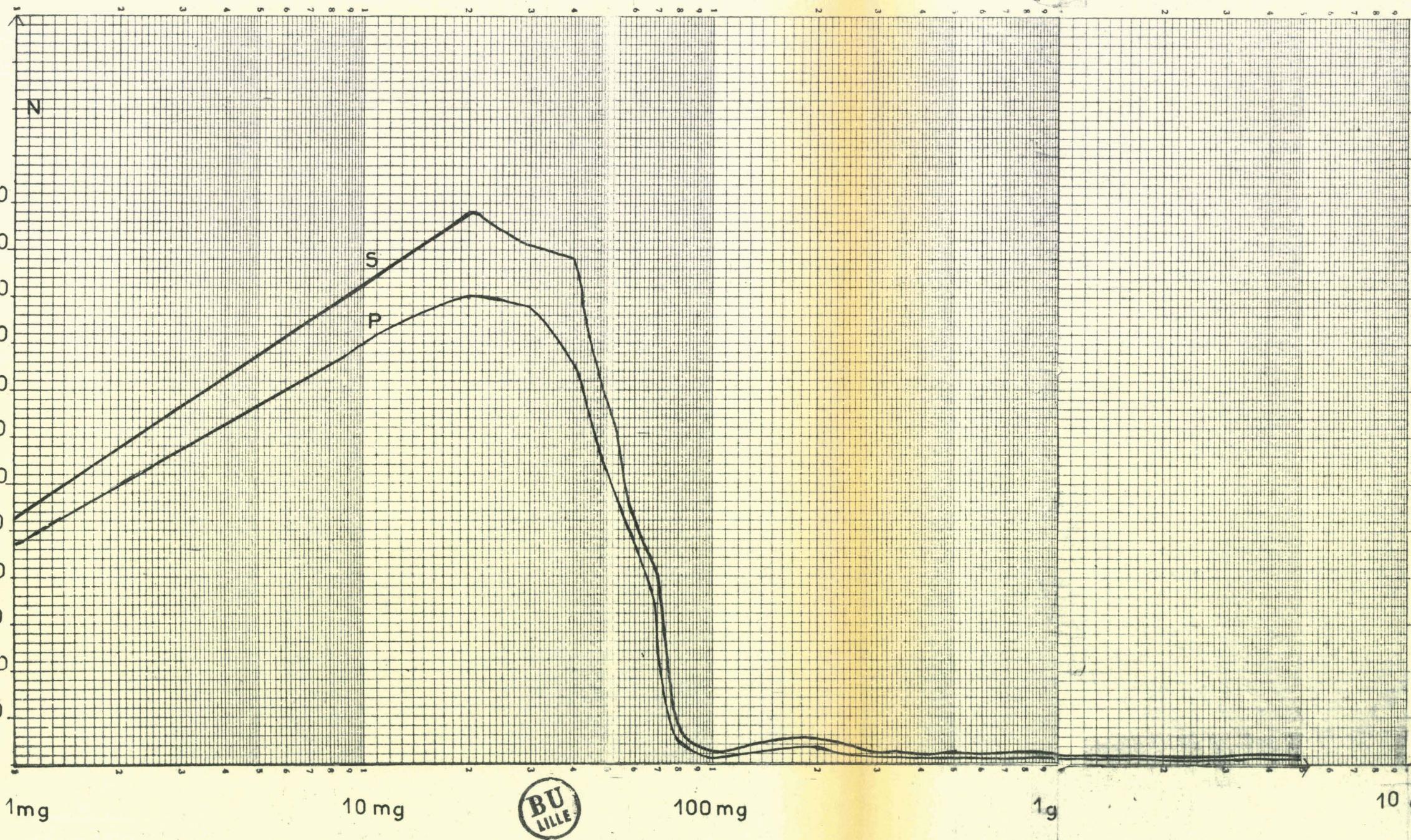


QUADRILLÉ SEMI-LOGARITHMIQUE A 3 MODULES

CARBONATE DE MAGNESIUM

TOCHON - LEPAGE - PARIS

TOCHON - LEPAGE - PARIS



BU
LILLE

Interprétation des résultats.-

Il n'y a pas de montée lente au départ donc dans ce cas la bactérie ne semble pas mobiliser efficacement le CO_2 , la courbe s'élève d'ailleurs rapidement jusqu'à 20 mg de CO_3Mg par tube puis elle redescend tout aussi rapidement.

Le fait que l'optimum soit faible puisqu'il n'est que de 20 mg nous fait supposer que dans le cas du carbonate de magnésium c'est l'ion Mg qui intervient en tant qu'oligo-élément beaucoup plus que la tension en CO_2 .

La toxicité du CO_3Mg pour des doses immédiatement supérieures confirme cette hypothèse.

L'optimum se situe donc à 0,008 ion g par litre.

Dans les milieux naturels, le CO_3Mg de la dolomie n'intervient sans doute pratiquement pas en présence du CO_3Ca dans l'équilibre qui touche le CO_2 ; car il est aussitôt solubilisé, hydrolysé, ce qui d'une part l'empêche de participer à la mise en solution du CO_2 , et d'autre part limite sa toxicité.

Il convenait ensuite de chercher si les actions de ces deux carbonates pouvaient se compléter.

Afin de déterminer un éventuel rapport optimum nous avons ajouté à la dose optimale d'un carbonate les doses immédiatement supérieures et inférieures de l'autre.

Nous avons ainsi préparé deux séries de tubes : la première avec 70 mg de CO_3Ca dans chaque tube et les doses de CO_3Mg suivantes 12.16.20.24.28.32 mg.

la seconde avec 20 mg de CO_3Mg et les quantités de CO_3Ca suivantes : 58.62.66.70.74.78 mg.

Avec comme tube-témoins :

I tube avec 70 mg de CO_3Ca

I tube avec 20 mg de CO_3Mg

PREMIERE SERIE

CO ₃ Ca en mg	CO ₃ Mg en mg	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en pro- fondeur	M
70	0	I5.I4.I2.I6.I7.I3.I5.I4 I5.9.I5.20.I2.I8.I9.20	I52	I8.I7.II.I3.I4.8.I2.I9 I3.II.8.I4.23.7.I8.I8	I40
70	I2	5.4.3.I.8.2.3.I5. I3.3.I2.5.II.4.9.3.	63	7.3.I.3.3.4.8.5. 3.9.4.6.2.3.5.4.	43
70	I6	7.6.3.5.I3.4.8.6. I2.I7.I2.I4.8.3.25	78	6.8.8.I0.5.7.9.6. 8.7.6.I0.2.9.I5.6	76
70	20	5.8.4.6.6.I0.6.20 I0.I3.6.5.I2.I6.9.I2	92	II.8.2.I3.II.8.I2.5. I2.4.8.6.I6.8.6.II.	88
70	24	8.II.I7.I6.7.25.I5.I9 9.23.I5.II.6.8.22.I6	I42	I4.I5.I9.8.I5.II.8.I0 I8.I2.I0.II.I4.I2.I4.I5	I28
70	28	I4.8.5.4.I2.II.I2.25 6.8.8.9.5.I0.I8.I4	I05	5.6.8.I4.8.II.2.II I2.3.4.5.I8.I2.I7.I3	91
70	32	I0.6.3.4.5.3.3.9. 4.5.9.I2.I4.6.9.I4	72	3.6.8.I4.4.7.9.4. 8.9.5.4.8.9.0.8.	66

Dilution $\frac{1}{10}$



DEUXIEME SERIE

CO ₃ Ca	CO ₃ Mg	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
0	20	I0.I2.I2.I0.I4.I6.II.I4 9.I5.I4.II.II.I9.I8.I7	I33	II.2I.8.8.23.I4.I6.7 8.I7.6.5.7.9.7.8.	I09
58	20	I0.I6.7.II.9.9.8.9. I4.I8.22.8.I2.I7.2I.I0	I2I	6.3.24.I8.I5.9.8.I2 I0.8.8.I7.I0.II.I2.2I	IIO
62	20	20.I0.2I.28.20.I7.8.22. 25.I4.I7.20.I7.I9.I5.I8	I70	I6.I2.2I.I7.I0.23.I4.I3 I3.I5.I2.I7.I5.I3.II.I5	I49
66	20	I2.8.II.9.I7.9.I3.I0 II.I2.7.2I.22.23.I2.9.	I25	8.9.I5.8.9.I5.I6.9. I8.I3.I8.9.7.7.2I.I6	I23
70	20	6.8.3.I5.4.3.5.3. 5.6.7.9.2.4.9.I8	66	4.6.2.II.4.3.9.4. 5.0.8.2.II.9.7.8.	58
74	20	8.I.9.4.7.8.5.I4 I7.I2.4.6.3.4.6.4.	70	5.6.8.II.4.8.9.3. II.7.3.0.8.7.8.5.	64
78	20	5.0.8.5.I.4.9.5. 5.I0.7.5.4.3.6.I.	47	3.4.0.5.6.7.I.3. 8.4.3.0.2.5.2.0.	33

SO ₄ Mg absent	I0.7.3.I0.6.I7.I9.25	I25	I4.II.I8.9.2I.I3.I2.I5	I02
CO ₃ Mg 20 mg	8.I2.9.I8.I6.I6.I3.I4		8.II.I3.I6.9.I7.8.5.	

Dilution $\frac{1}{10}$



Interprétation des résultats.-

La comparaison avec les tubes témoins montre qu'il est possible d'obtenir par l'action combinée des 2 carbonates des résultats supérieurs à ceux obtenus avec chacun d'eux. Avec 62 mg de CO_3Ca et 20 mg de CO_3Mg nous obtenons en effet 170 bactéries par unité Thomas en surface et 149 en profondeur tandis que nos tubes témoins de CO_3Ca avec 70 mg et de CO_3Mg avec 20 mg nous donnent respectivement 133.109 et 152.140.

Ce rapport optimum des 2 carbonates restant à établir de manière plus précise on peut néanmoins faire d'autres remarques.

Le fait qu'avec 70 mg de CO_3Ca le meilleur résultat soit obtenu avec 24 mg de CO_3Mg et non plus 20 nous montre que le calcium est responsable du recul de toxicité du CO_3Mg .

Cet antagonisme entre les ions Ca^{++} et Mg^{++} est une propriété bien établie en physiologie végétale.

Le fait qu'avec 20 mg de CO_3Mg le meilleur résultat soit obtenu avec 62 mg de CO_3Ca au lieu de 70 montre que le CO_3Ca intervient surtout pour fournir une tension en CO_2 suffisante et que cette tension est établie bien avant le maximum atteint sur nos courbes, l'ion Ca^{++} jouant alors par l'excédent le rôle d'oligo-élément.

En effet une partie du CO_3Ca donc Ca^{++} est nécessaire à l'équilibre $(\text{CO}_3\text{H})^2 \text{Ca} \rightleftharpoons \text{CO}_2$ c'est seulement lorsque cet équilibre est atteint que le Ca^{++} peut être utilisé par la bactérie en tant qu'oligo-élément.

La constitution d'un tube témoin où le SO_4Mg est absent mais contenant 20 mg de CO_3Mg le rapport $\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}}$ étant maintenu par action sur le SO_4Fe nous donne comme résultat I25 et IO2.

Ces chiffres sont sensiblement inférieurs à ceux obtenus avec 20 mg de CO_3Mg dans le milieu type. C'est donc que le SO_4Mg intervient surtout dans le rapport $\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}}$ et que son magnésium a une action beaucoup

moins "dynamique" que celui introduit sous forme de CO_3Mg .

Il paraît donc judicieux de fournir le magnésium sous sa forme carbonatée.

Avant de déterminer plus exactement le rapport $\frac{\text{Ca}^{++}}{\text{Mg}^{++}}$ nous avons fait à titre de vérification, une série de tubes où nous avons réalisé, à partir de chacun des poids optima des deux carbonates, les rapports simples suivants :

I,5.2.2,5.3.3,5

ce qui nous donnait dans nos tubes

Numéro	Rapport	CO_3Ca	CO_3Mg	Numéro	Rapport	CO_3Ca	CO_3Mg
I	3,5	82 mg	20 mg	6	3,5	70 mg	17
2	3	70	20	7	3	70 mg	20
3	2,5	58	20	8	2,5	70 mg	24
4	2	47	20	9	2	70 mg	30
5	I,5	35	20	10	I,5	70 mg	40

Les tubes 2 et 7 sont évidemment identiques.



RAPPORTS

Tubes	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
I	5.3.4.5.8.5.I0.9 4.5.3.6.5.6.6.5.	55	I.0.4.3.3.I8.5.2 3.2.9.3.I.8.4.5	44
2 - 7	3.3.3.I0.I3.4.9.4 4.6.2.I0.6.9.3.I2.	63	7.9.5.2.0.II.I2.4 4.0.6.2.5.8.7.3	53
3	I2.I4.II.3.9.8.I2.7 I4.I7.8.3.9.I2.II.8	98	8.7.0.II.I4.9.2.5 7.I.I2.8.6.8.5.5	67
4	3.7.4.0.2.II.3.0 3.0.0.2.2.I.5	26,8	I.2.4.0.6.0.8.2 0.I.0.0.3.3.2.0	20
5	27.	16,8	I9.	II
6	7.I.8.9.0.5.9.II I2.3.5.4.5.3.4.3	56	8.5.4.3.5.2.II.3 6.0.8.II.0.3.0.2	44
8	8.6.I4.I2.II.9.I3.I7 I7.8.8.I9.8.II.I4.I4	II9	I0.3.4.6.9.I3.4.6 I7.I3.8.I8.4.I0.I3.8	91
9	II.7.4.8.7.0.II.8 I2.I3.0.9.II.9.I7.4	83	7.II.2.4.8.4.9.0 7.3.5.II.7.2.3.2	53
10	7.0.II.4.9.I4.3.8. 0.3.I.7.7.3.4.3.	52	7.5.3.8.0.3.II.6 0.2.4.6.0.2.5.I	39

Dilution $\frac{1}{10}$



Le meilleur résultat est obtenu dans cette série par 70 mg de CO_3Ca et 24 de CO_3Mg soit par un rapport $\frac{\text{Ca}^{++}}{\text{Mg}^{++}} = 2,5$.

Donc tout se passe comme si le rapport optimum se situait aux alentours de 2,5.

Cette vérification faite, nous avons continué en travaillant sur des valeurs voisines de 62 mg de CO_3Ca et 20 de CO_3Mg , valeurs établies précédemment comme étant les plus proches du rapport à déterminer.

Pour ce faire, nous avons diminué les intervalles entre les poids de carbonates essayés dans chacun des tubes de nos deux dernières séries qui étaient constituées comme suit :

La première avec 20 mg de CO_3Mg et les poids suivants de CO_3Ca :

60 mg. 60,5. 61. 61,5. 62. 62,5. 63. 63,5. 64

La seconde avec 62 mg de CO_3Ca et les poids suivants de CO_3Mg

18 mg. 18,5. 19. 19,5. 20,5. 21. 21,5. 22

PREMIERE SERIE

CO ₃ Ca	CO ₃ Mg	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
60 mg	20 mg	I6.I4.22.I4.I7.I4.I3.20 9.I8.I6.I7.I3.I5.I5.I2	I53	9.I5.I4.I0.I9.21.I3.I9 I5.I6.8.I2.20.9.II.I8	I43
60,5	20	I2.I5.I4.22.I3.I7.23.I4 I2.21.I3.20.I0.I8.23.I3	I68	I2.I7.23.I7.I4.I0.6.I4 9.I3.I9.22.30.I5.8.9.	I48
61	20	I5.I4.I4.20.20.I4.23.22 28.I7.I9.II.I7.I8.I6.I7	I78	I9.I8.I3.9.I8.22.2I.II I2.I6.I8.I0.7.I5.I4.I7	I62
61,5	20	I2.I4.20.2I.I6.II.I5.I6 23.I3.I4.2I.I6.I5.I6.I4	I63	I9.II.I6.23.I8.I2.I7.2I II.I9.I0.9.I8.9.I8.II	I51
62	20	I8.I6.I5.I4.22.I9.I8.I7 I8.9.I4.I9.I4.23.I6.I8	I57	II.I8.I6.I9.I0.I3.I2.2I 8.I6.II.I7.I8.I3.22.6	I44
62,5	20	I9.I0.22.I3.I5.9.II.II. II.I2.I8.I7.I8.26.I9.I2	I51	I5.I3.I5.9.I3.I5.I2.I4 8.I7.I0.I3.I4.I5.I9.25	I41
63	20	I4.9.I5.I8.I8.I4.30.I3 II.I6.5.I8.I5.20.6.I4	I47	I5.8.II.I0.II.I3.I5.I6 I5.I2.I4.I5.25.I6.I3.I0	I36
63,5	20	I8.I2.9.I0.I3.I2.I8.20 II.2I.I4.I2.I7.I6.II.I8	I45	II.I4.I0.I2.I4.I8.I7.I4 I0.9.I3.I7.I3.I2.I6.9.	I28
64	20	I7.20.I4.I8.I0.I7.I6.I6 8.2I.7.I5.I3.I6.II.9.	I42	I0.I5.I2.I4.9.I7.I3.8 I5.I6.I2.II.I7.6.I3.20	I30

Dilution $\frac{1}{10}$



DEUXIÈME SÉRIE

CO ₃ Ca	CO ₃ Mg	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
62 mg	I8	8.II.I6.I3.I0.I2.7.8. I5.I0.I9.I4.I5.22.I7.21	I36	7.I4.III.I8.I7.I5.2I.7 3.9.I4.I2.I4.II.I8.I7	I30
62	I8,5	I7.I4.2I.I2.4.I7.9.I7 I8.I4.9.I3.6.I5.I7.23	I4I	I7.I4.2I.9.7.I3.8.I9 I4.I7.8.I8.II.7.II.I8	I32
62	I9	24.I0.9.I4.I9.8.I7.I4 7.9.I8.2I.I6.I4.I7.I7	I40	I7.I4.II.I3.2I.I2.9.I3 I7.I4.I8.II.I3.7.I2.I8	I37
62	I9,5	I5.I7.I8.2I.I7.I4.I3.I8 2I.I7.I9.II.9.I5.7.8.	I50	22.I2.9.I3.22.I8.I3.I4 I4.I7.I2.8.I7.I8.7.I5	I44
62	20,5	I7.23.I8.II.I4.I9.9.I3 I8.2I.I5.I5.9.I6.23.I4	I59	I6.2I.I4.II.8.I9.I5.I4 I9.I8.2I.I3.I7.I2.3.I5	I47
62	2I	I8.23.I3.II.8.I5.I4.I6 I7.2I.I8.II.I3.I7.I2.I0	I48	I5.20.II.20.I0.I2.I7.9 0.3.23.I7.9.I4.23.20	I39
62	2I,5	I6.8.I7.I2.I5.I4.9.22. I8.II.I9.2I.I0.8.I7.7.	I40	I0.I4.8.22.I7.I3.I5.I2 8.I8.20.I4.I7.8.I2.2.	I3I
62	22	I2.I4.I6.2I.I8.II.I5.I4 9.I2.I3.II.I4.I7.I3.I0	I37	I7.I2.I3.II.I4.5.I5.I4 I8.2I.I9.II.7.I3.7.I0	I29

Dilution I
10



Le meilleur résultat est donc obtenu par l'addition au milieu de culture Potelle de :

61 mg de carbonate de calcium

20 mg de carbonate de magnésium

ce qui nous donne comme nous étions d'ailleurs en droit de le supposer un rapport voisin de 2,5 à savoir 2,57.

Ainsi les carbonates de calcium et de magnésium se sont révélés utiles dans la culture du *Perabacterium spelei* dans le milieu synthétique sur lequel nous avons travaillé.

Leur action combinée a donné des résultats supérieurs à ceux obtenus avec chacun d'eux.

Le CO_3Ca servant surtout à fournir une tension en CO_2 suffisante et apportant une partie de son Ca^{++} à la réalisation de cet équilibre et une autre partie comme élément oligodynamique.

Le CO_3Mg intervenant par l'ion Mg^{++} en tant qu'oligo-élément.

Les actions de Ca^{++} et Mg^{++} étant combinées pour combattre la toxicité de chacun d'eux et pour obtenir le maximum d'effet.

N I T R A T E S

Nous avons procédé en utilisant le milieu Potelle enrichi de 61 mg de CO_3Ca et 20 mg de CO_3Mg .

Nous avons réalisé pour chaque nitrate 7 tubes où le nitrate étudié se trouvait successivement aux concentrations 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} .

Nous avons vérifié l'action des nitrates de Magnesium - Calcium - Potassium - Sodium.

Tous immédiatement solubles.

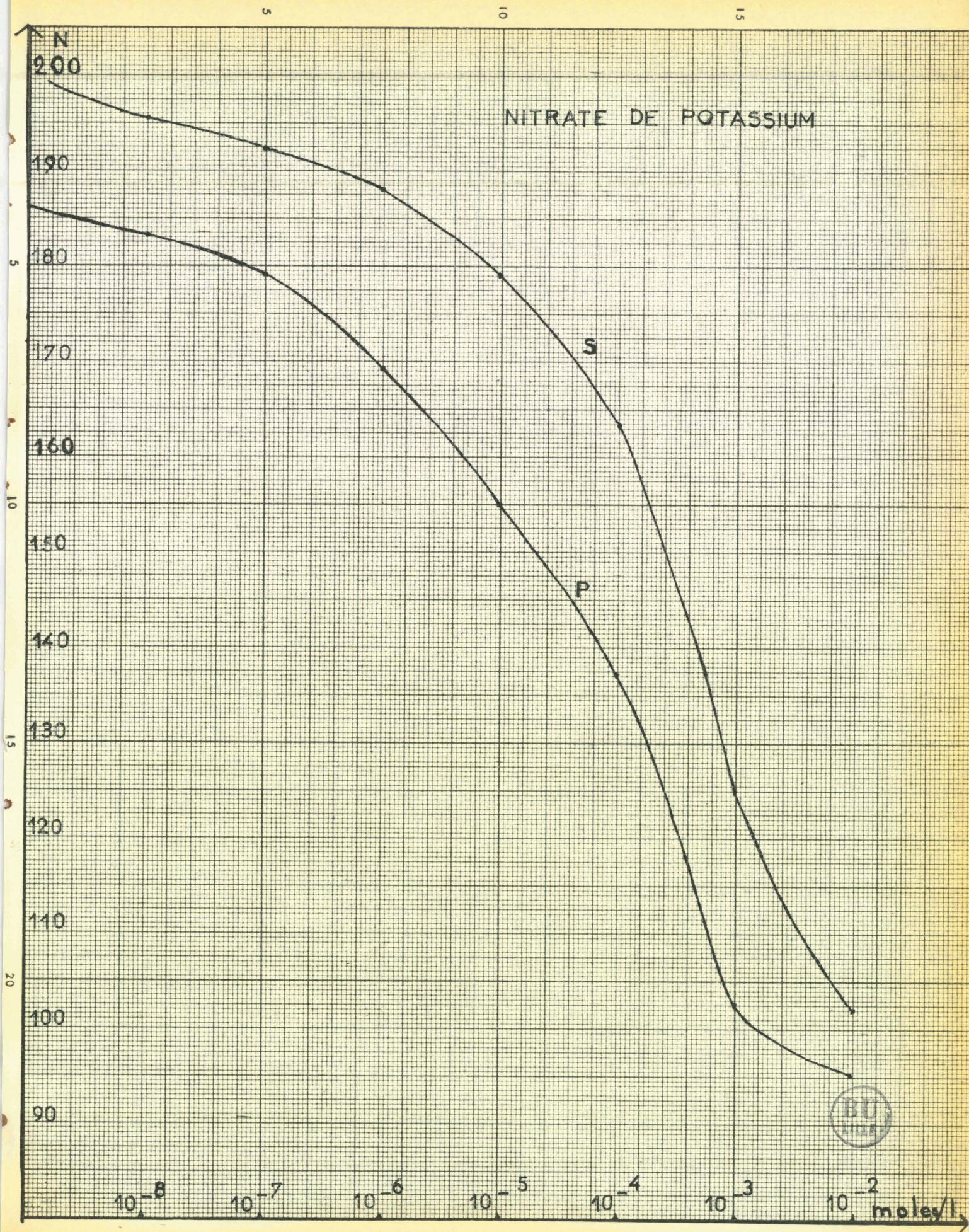
Avec nos résultats un graphique a été dressé pour chaque nitrate, graphique où était tracée la courbe de peuplement en bactéries en fonction de la concentration en nitrate du milieu.

NITRATE DE POTASSIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
10^{-2}	II.I3.6.I2.II.2.II.II I2.II.I4.I4.I3.I3.I2.24	I02	II.6.8.7.I2.I0.9.5. I0.9.I2.I0.I3.II.I2.8.	95
10^{-3}	9.I3.9.I6.9.I4.II.I0 I3.I0.I5.I6.I6.I0.I6.I2	I24	I2.I2.5.I2.I8.II.3.4. 5.9.I3.II.I9.I5.8.7.	I02
10^{-4}	9.I4.20.I8.2I.I7.I2.I5 I7.20.I6.I7.23.I2.II.I9	I63	I3.9.I2.7.I7.I6.I3.I4 I7.II.I0.I4.I2.I5.I6.I6	I38
10^{-5}	I5.I9.I7.I3.I9.22.I5.I4 I7.I6.22.I2.24.I5.22.25	I79	I3.I6.I5.I8.I7.I2.I4.22 3.9.I4.I6.I9.20.I8.22	I55
10^{-6}	I7.23.I8.2I.24.I6.I7.26 20.I5.I7.8.24.20.I7.I8	I88	I7.24.9.I8.I7.9.I8.23 I4.I6.I8.2I.I2.I8.I9.I7	I68
10^{-7}	I7.I9.I4.27.23.I4.9.24 3I.I5.I4.22.29.I4.I5.2I	I92	25.I7.II.24.28.I7.I9.I2 23.I9.I4.I4.I2.I4.I7.I9	I78
10^{-8}	I7.23.I5.I9.27.25.27.I8 I9.24.I0.I9.I4.20.I9.I8	I96	I2.I9.24.I8.I9.I4.I8.20 22.I8.I2.20.I7.2I.I9.2I	I83
Témoin	20.9.I6.I6.I3.I7.2I.23 22.I9.30.20.33.20.29.I3	20I	I9.I8.25.I9.I5.I8.I3.20 I7.I8.I8.20.I7.22.20.I9	I86

Dilution $\frac{1}{10}$





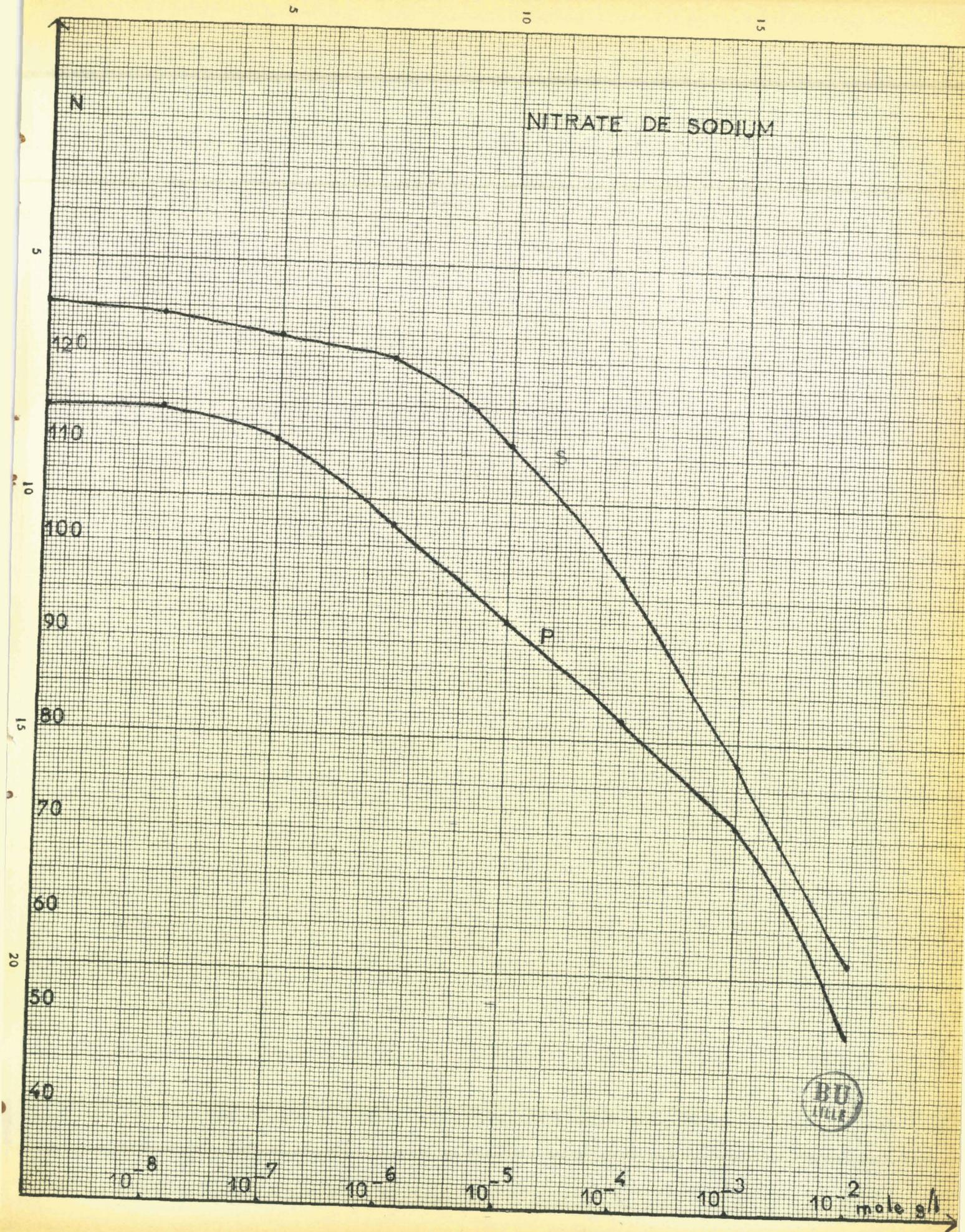
NITRATE DE SODIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
10^{-2}	8.4.I2.3.I.0.II 9.5.7.6.7.9.9.0.	57	I0.2.4.7.I.4.3.6. 8.7.9.8.5.3.2.0.	49
10^{-3}	3.I4.5.3.I5.8.II.I. I5.6.9.I2.9.6.3.5.	78	I5.0.5.4.9.5.6.8. 6.4.2.I4.I3.7.4.I2	71
10^{-4}	8.I2.II.I2.I2.II.I8.8. 3.9.I5.8.5.7.9.8.	97	8.7.9.II.I4.I2.8.3. 5.9.II.6.9.5.8.7.	82
10^{-5}	4.6.I8.7.9.I2.I2.I3 2I.I0.6.9.I8.9.I2.I3	III	I0.I4.5.II.II.8.9.I0 9.6.I0.6.6.I3.8.I2	92
10^{-6}	I4.I4.I3.I4.II.I3.I4.3. II.9.I2.7.I7.I5.I8.7.	I20	6.8.I0.II.8.I0.7.9. I0.I2.I0.I6.II.I5.9.I2	I02
10^{-7}	I9.8.9.8.I8.9.6.I6 I8.9.5.I4.I5.I7.II.I4	I22	I2.I0.I0.I2.7.I0.I2.I3 7.I0.I5.I7.I2.8.I2.I2	III
10^{-8}	I0.I9.8.6.I7.9.I3.22 I3.II.II.I3.I6.II.I4.6	I24	I2.II.9.II.I3.7.9.I0 22.I0.I8.I.I5.I8.I7	II4
TEMOIN	I0.I3.I7.9.I6.I4.8.8. 8.I4.I5.I7.I5.I4.8.I4	I25	I6.I8.I4.I6.8.8.II.8. I2.I6.9.8.II.9.8.II	II4

Dilution I/I0



NITRATE DE SODIUM



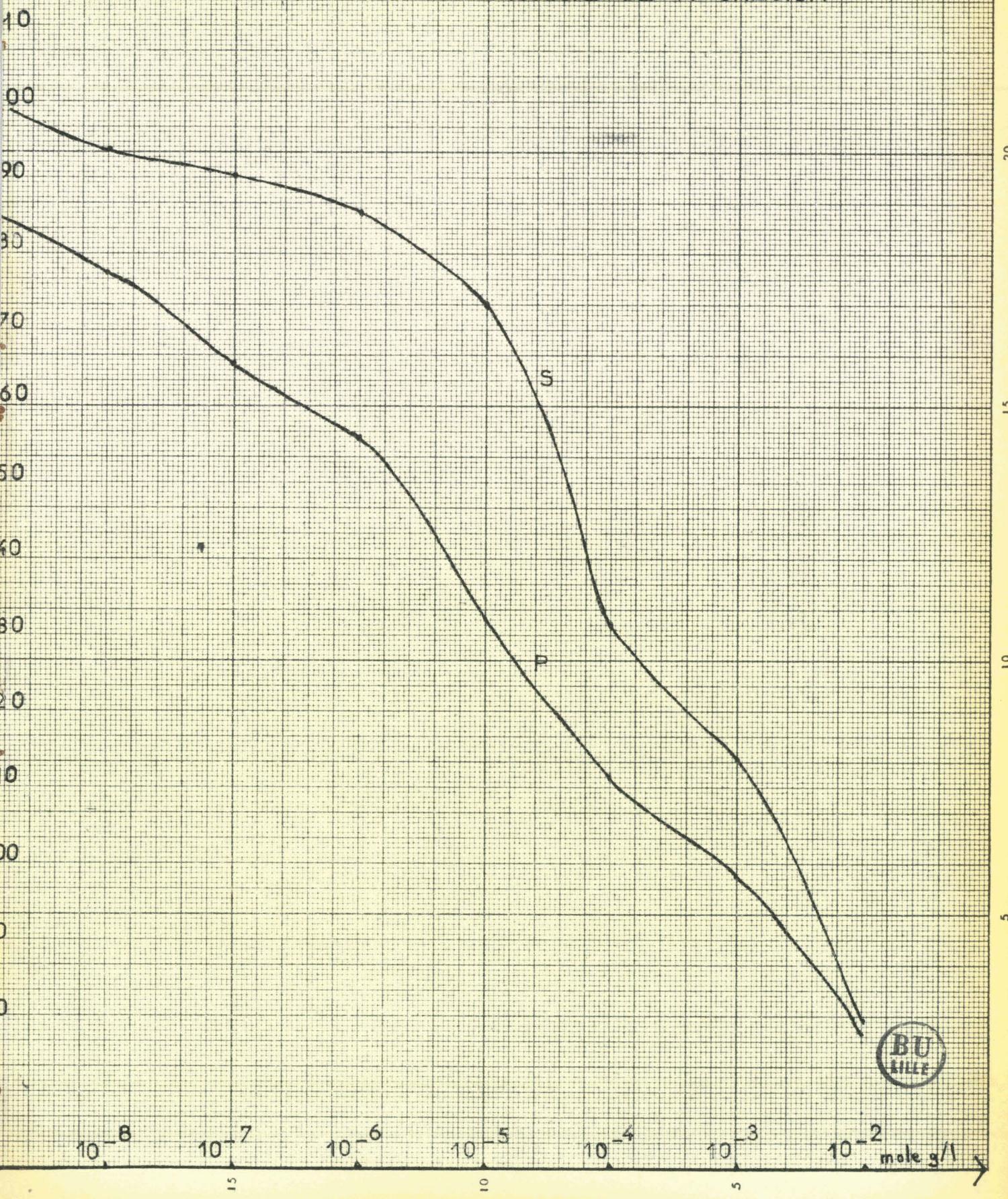
NITRATE DE MAGNESIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profondeur	M
IO-2	I4.9.5.7.6.8.9.7. 7.I2.5.6.6.6.I4.8.	80	9.7.4.I0.9.I0.I6.6 I0.5.8.8.8.4.5.7.	78
IO-3	I5.II.9.9.I4.8.I6.8. II.I5.8.I6.I0.I4.I2.7.	II4	I0.I2.5.9.I0.9.I0.I2 I4.II.8.I4.9.I2.I8.II	I99
IO-4	I3.II.I2.I2.I4.I3.I7.I2 I3.I3.I4.I4.8.I7.I3	I3I	I8.I5.9.8.I2.8.9.I3 7.I3.I7.I2.I4.I0.I3.6.	II5
IO-5	23.I7.I3.I9.I6.I6.I7.I8 I6.20.I4.I5.2I.I6.I9.I8	I73	23.I5.I0.I2.II.I3.9.I3 I5.I4.I3.24.I0.I3.9.8.	I32
IO-6	I6.I8.23.I9.I7.I5.I5.I7 25.I9.I9.22.23.I5.I7.I8	I86	I5.2I.I5.I4.I8.I2.I7.I8 I4.I9.I5.I6.I5.8.I7.I6	I56
IO-7	I8.I5.2I.22.2I.20.I5.22 2I.I7.I8.24.I7.I5.28.I0	I90	I8.I6.I5.I4.I9.20.I7.I6 2I.20.22.I6.I8.I8.I4.I0	I65
IO-8	22.27.I2.I8.22.I9.I7.23 28.I5.I5.20.I7.I8.23.I9	I93	29.30.I7.I3.20.I0.I2.II 2I.I4.I7.I8.30.I8.9.I3	I76
TEMOIN	20.9.I6.I6.I3.I7.2I.23 22.I9.30.20.33.20.29.I3	20I	I9.I8.25.I9.I5.I8.I3.20 I7.I8.I8.20.I7.22.20.I9	I86

Dilution 1
10



NITRATE DE MAGNESIUM

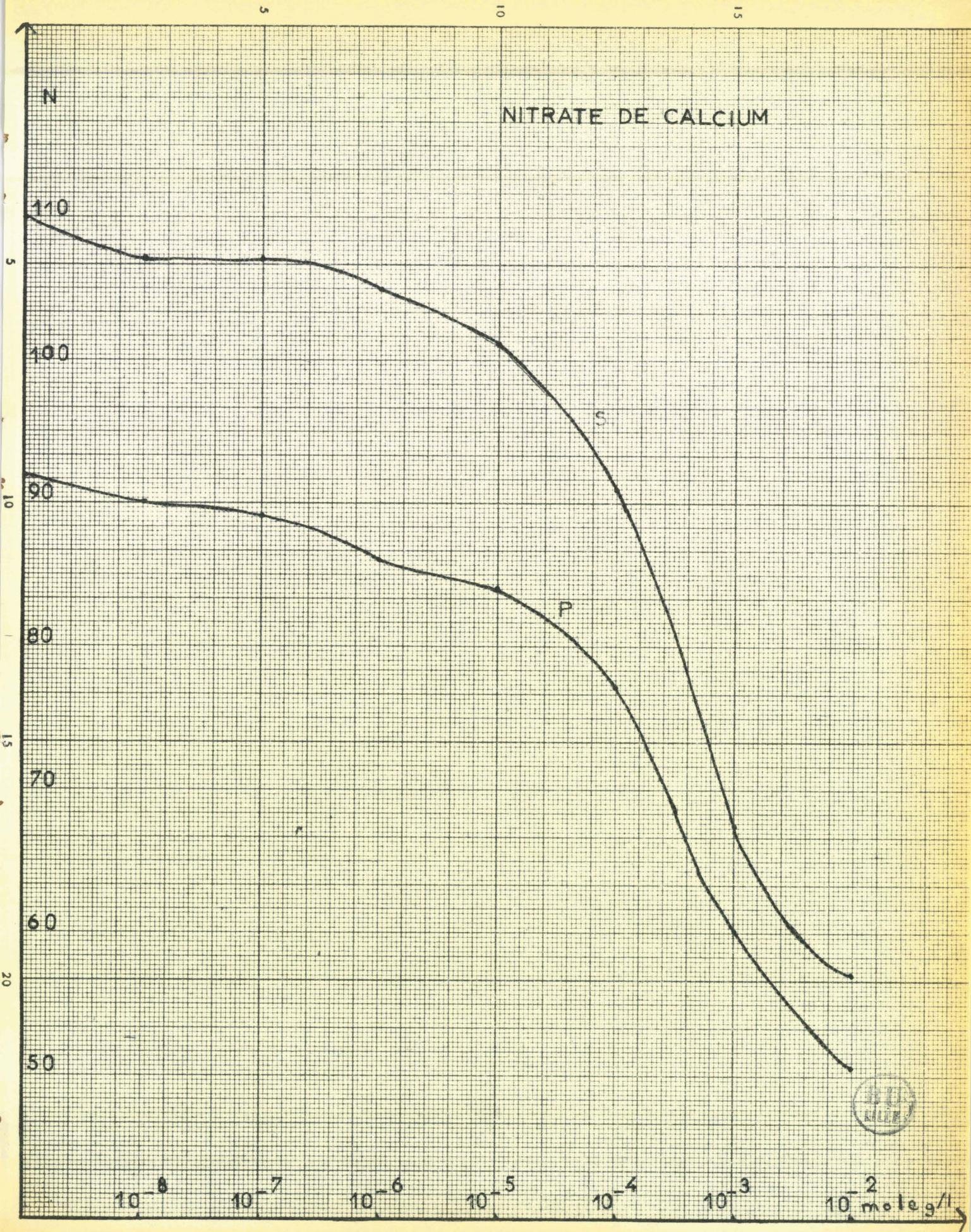


NITRATE DE CALCIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
10^{-2}	9.I.5.2.9.2.12.8. 4.7.2.5.8.5.9.4.	57	6.3.4.6.2.7.6.6. I.6.5.9.4.8.10.4.	54
10^{-3}	I2.4.8.6.7.4.6.5. 2.6.II.10.2.9.2.I4.	67	3.3.2.0.7.10.2.7. I8.6.4.8.9.8.7.2.	60
10^{-4}	6.I0.7.20.9.II.I4.2. I4.I0.8.3.9.8.II.5.	91	7.5.4.8.5.9.3.8. 8.I2.I5.7.7.6.8.I2	77
10^{-5}	II.20.8.0.I8.7.8.I2. 7.I9.9.7.6.5.I4.II.	101	7.8.9.8.8.9.8.I2 I7.3.5.8.7.II.8.7.	84
10^{-6}	I7.7.I0.6.I0.I5.9.7. I4.9.9.I5.I0.I8.6.7.	105	5.9.I0.6.8.II.7.9. I0.4.I7.8.I3.I2.0.9.	86
10^{-7}	5.I5.5.I3.20.7.I8.I3. I4.8.I2.I0.I0.7.7.8.	107	8.I7.II.3.I2.9.8.4. 8.9.4.8.I2.I3.I0.7.	89
10^{-8}	7.I8.5.I3.I4.9.8.II. 9.II.I3.I2.I0.9.II.I2	107	I2.II.9.8.7.I4.8.II I2.I0.2I.3.4.5.8.I.	90
TEMOIN	I2.7.II.I4.II.I4.II.I0. I7.I9.5.5.I0.9.9.I2.	110	8.9.6.I0.I7.3.22.II. 4.I2.4.27.I7.6.9.	92



NITRATE DE CALCIUM



Interprétation des résultats - Conclusion.-

Les courbes traduisent une identité d'action remarquable pour les quatre nitrates étudiés.

En effet pour les concentrations 10^{-8} , 10^{-7} 10^{-6} les nitrates se révèlent ou pratiquement indifférents comme le nitrate de calcium ou légèrement inhibiteurs pour les autres, avant 10^{-5} tous sont tolérés.

A partir de 10^{-5} tous se montrent nocifs, ce caractère va en s'accentuant pour les concentrations suivantes.

Pour 10^{-3} et 10^{-2} on peut dire que les nitrates sont franchement toxiques.

On remarque aussi que pour ces doses la courbe du peuplement en surface rejoint celle du peuplement en profondeur, ce qui confirmerait l'action毒ique des ions dans lesquels l'élément essentiel (ici N) se présente au maximum d'oxydation.

L'identité d'action ainsi démontrée nous permet de supposer que la nocivité des nitrates est davantage due à l'ion NO_3^{--} qu'aux anions associés.

Dans le milieu naturel les fermentations de matières organiques apportant des nitrates doivent, sauf aux faibles concentrations, inhiber le développement des ferrobactériales.

Il n'y a donc pas lieu d'ajouter de nitrates dans la constitution du milieu idéal.

S U L F U R E S

Nous devions vérifier l'action des sulfures de fer, de calcium et de sodium.

Le sulfure de fer se présentait sous forme de barres très résistantes que nous avons dû réduire en poudre au marteau.

De ce fait, nous n'avons pu, pour des raisons pratiques, réaliser dans nos tubes que les concentrations 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

Pour les sulfures de calcium et de sodium, nous avons remarqué dans la préparation de leurs séries I précipité noir très dense dans les tubes où étaient réalisées les concentrations 10^{-2} et 10^{-3} . Il était dû à la précipitation du fer du milieu sous forme de sulfure de fer colloidal.

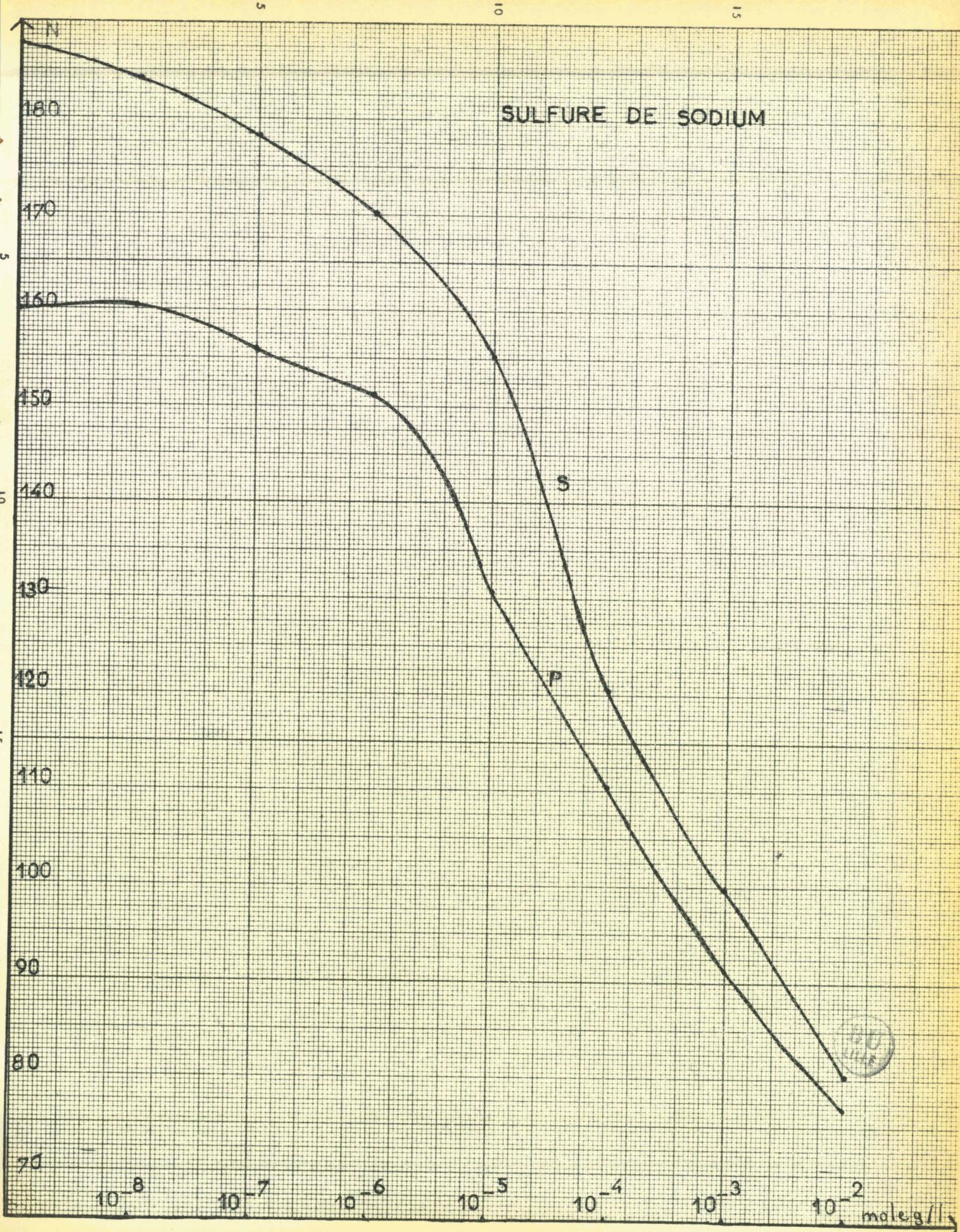
Tous nos essais avec les sulfures ont été effectués avec le milieu Potelle enrichi des doses de carbonates de calcium et de magnésium déterminées précédemment comme étant les plus favorables au développement du *Perabacterium spelei*.

SULFURE DE SODIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
10^{-2}	3.6.8.6.5.8.II.I2. 6.8.7.5.II.2.I6.I5.	80	7.8.3.8.8.I2.0.5. I4.5.8.9.7.8.I2.I0.	77
10^{-3}	I3.6.9.8.9.I6.I3.4. I3.I2.9.9.9.I0.7.I4.	100	7.9.I4.I4.9.I3.9.II. I5.0.I3.7.8.I7.I2.8.	91
10^{-4}	I3.8.I0.I5.I0.10.I2.I7 I0.I7.I4.II.6.I4.I5.I0.	120	I0.I2.9.8.I2.II.9.6. I3.I0.I2.20.I4.8.I4.9.	110
10^{-5}	I5.I7.I0.I2.20.22.II.I0 I5.I7.I0.I8.23.24.I7.7	155	9.I5.I6.9.7.I5.I4.I8. I2.I4.II.I2.5.I9.I7.8	131
10^{-6}	22.I6.I3.22.I9.I8.I3.I7 I8.I6.I8.23.I0.I9.I2.I5	170	I7.9.22.9.30.I6.I0.26 I9.I9.I2.I5.II.7.I4.8	151
10^{-7}	2I.26.I6.I4.20.22.I0.I7 I2.8.I0.23.20.I9.20.27	178	3I.I9.I3.24.I5.I4.I2.6 II.I8.I8.9.I4.I6.I3.I7	156
10^{-8}	23.I8.I7.I5.I4.24.2I.I9 I8.I7.9.24.I6.20.I4.I6	184	I4.I8.2I.9.I2.I7.18.I4 II.I4.I5.I7.I6.22.I8.20	160
TEMOIN	I4.I6.I8.27.I6.I7.I4.26 23.20.I0.I6.33.I5.I7.20	188	I6.I3.I6.I5.I7.I9.I7.I4 I5.I9.I7.I6.I7.I9.I8.9	160

Dilution $\frac{1}{10}$



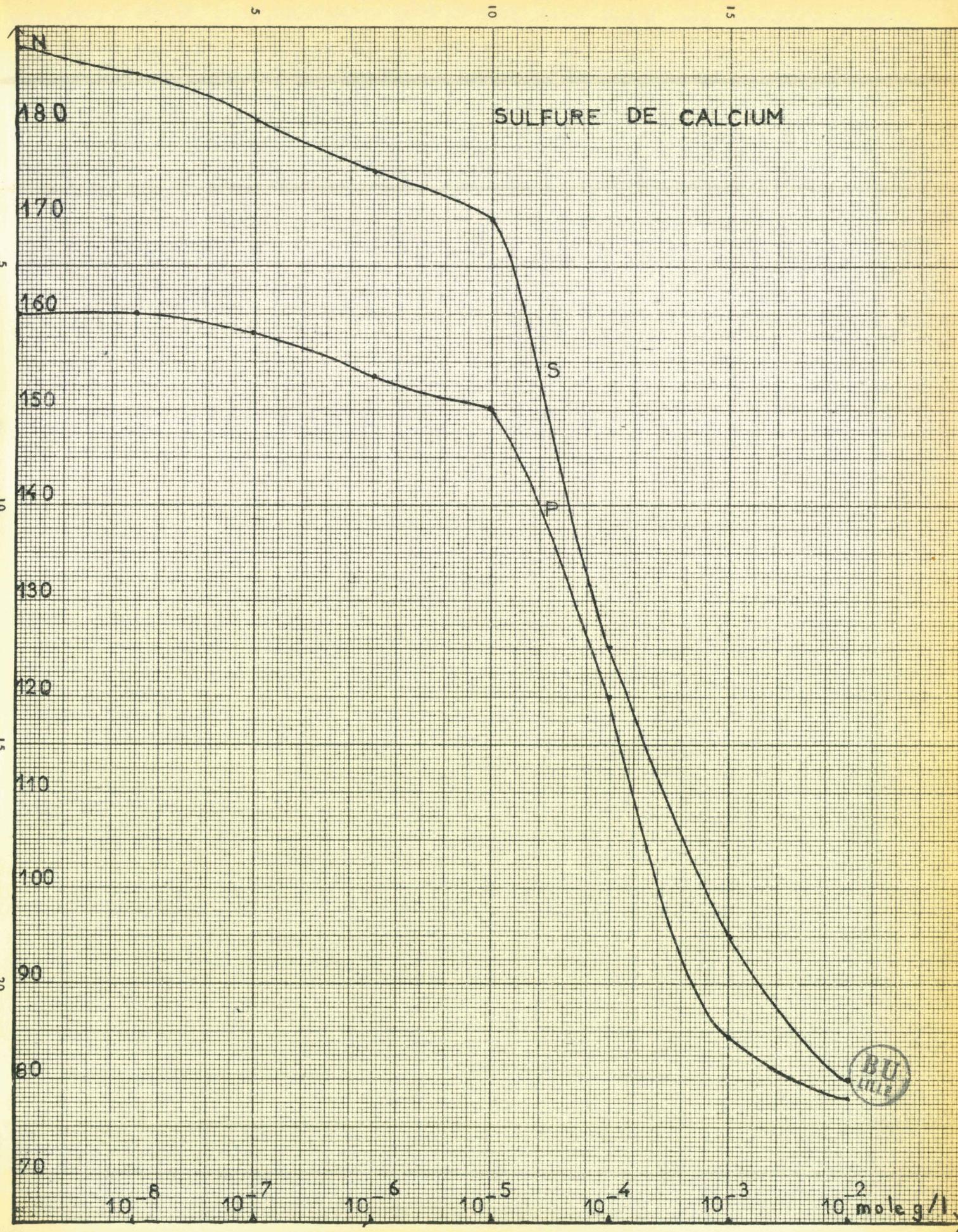


SULFURE DE CALCIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
10^{-2}	9.0.9.5.6.II.9.5 5.I2.8.8.I0.4.I5.I5	80	6.I0.5.8.4.6.I0.6 0.9.5.I3.I2.7.I2.3	78
10^{-3}	II.I0.7.8.I0.I2.II.I4 6.II.I3.5.7.9.5.I3	95	I0.7.I4.7.I0.5.6.I0 I0.9.6.8.6.4.8.I5	84
10^{-4}	4.23.I4.I5.9.I4.I6.3 I6.I2.I5.I4.7.I7.9.I2	I25	I5.8.7.I0.II.9.I5.I3 I4.I0.I4.I6.I2.9.I9.8	I18
10^{-5}	I2.I5.II.23.I7.I9.I4.I9 I8.25.I2.20.I2.I5.I6.26	I70	23.I9.I3.2I.I5.25.I4.I2 I6.I5.II.I5.8.7.I2.I4	I50
10^{-6}	23.I7.2I.25.I8.I5.I8.9 I2.2I.I7.I5.2I.I5.I4.20	I75	I7.I4.I8.2I.23.I7.I9.22 9.7.I8.I5.I5.I0.9.II	I53
10^{-7}	26.I8.22.I7.2I.I6.9. I4.I8.28.I7.29.I6.I4.20	I80	I8.24.I7.I5.I9.23.I7.8 9.7.I4.2I.2I.I5.I6.9	I58
10^{-8}	I7.23.I8.I9.24.I6.9.I9 I4.I8.27.25.I9.I6.I6.I8	I85	I7.2I.28.23.I4.9.8.17 2I.24.20.22.I3.I5.I7.8	I60
TEMOIN		I88		I60

Dilution $\frac{1}{10}$





SULFURE DE FER

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profon- deur	M
10^{-2}	II.9.I6.I8.II.6.I5.I2 I2.I3.7.6.4.II.5.4.	I04	I5.8.8.5.8.4.8.II I0.II.20.I6.6.8.I0.9	98
10^{-3}	I8.I4.I4.6.I9.I6.I3.I6 I8.I2.I2.I6.22.I2.I6.I3	I48	I2.I4.I8.I0.I5.I8.I7.I2 I7.9.I7.9.I2.I5.I0.I8	I40
10^{-4}	I7.I7.I0.8.29.6.8.2I I0.I5.I7.I2.I3.II.23.24	I53	8.22.I8.I6.I2.I6.I2.I0 I2.I8.II.I0.II.22.I4.22	I46
TEMOIN		I88		I60

Dilution $\frac{1}{10}$



Interprétation des résultats - Conclusion.-

Des trois sulfures étudiés, tous se sont révélés nocifs au développement du *Perabacterium spelei* pour certaines concentrations.

Pour le sulfure de calcium, la nocivité n'est vraiment apparente que pour la concentration 10^{-5} pour le sulfure de sodium elle apparaît déjà nettement pour 10^{-6} .

Les trois concentrations réalisées avec le sulfure de fer ont donné des résultats nettement inférieurs, elles aussi, à ceux trouvés dans notre tube-témoin.

Il y a lieu de remarquer que pour les sulfures de sodium et de calcium les plus faibles résultats (80 bactéries par unité Thomas en surface au lieu de 18,8) sont obtenus pour les concentrations 10^{-3} et 10^{-2} là où le fer s'était trouvé précipité à l'état de sulfure colloidal ce qui laisse penser qu'il ne pouvait agir sous cette forme.

Dans la constitution de notre milieu idéal il n'y avait donc pas lieu d'introduire de sulfure à la suite des carbonates, les sulfures s'étant révélés inhibiteurs aux fortes concentrations et indifférents aux faibles.

La présence de l'ion S^{--} rapproche en effet

le potentiel d'oxydo-réduction du milieu des valeurs négatives à l'inverse de l'oxydation du Fe^{++} en $\text{Fe}^{++\cdot}$.

Dans la nature, les écoulements de solutions contenant S^{--} et provenant des zones réductrices où les bactéries réductrices du soufre s'attaquent à SO_4^{--} freinent le développement des ferro-bactériales, mais ne le gênent vraiment qu'aux concentrations atteignant 10^{-6} ou 10^{-5} .

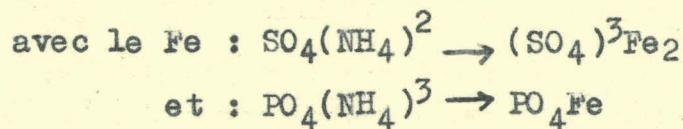
Il semble que ces seuils de toxicité ne soient pas toujours atteints car les ferrobacteriales et les bactéries réductrices du soufre voisinent jusque dans le milieu naturel : la dolomie par exemple.

S E L S D'A M M O N I U M

Nous avions à vérifier l'action des sels d'ammonium suivants : chlorure - carbonate - sulfate - phosphate.

Les sulfures et nitrates s'étant révélés nocifs, nous avons utilisé notre milieu primitif seulement enrichi en carbonates.

Nous avons remarqué à nos plus fortes concentrations 10^{-3} et 10^{-2} avec le sulfate et le phosphate d'ammonium la formation d'un très léger précipité seulement en haut de nos tubes qui s'explique comme suit :



Tous deux précipitent.

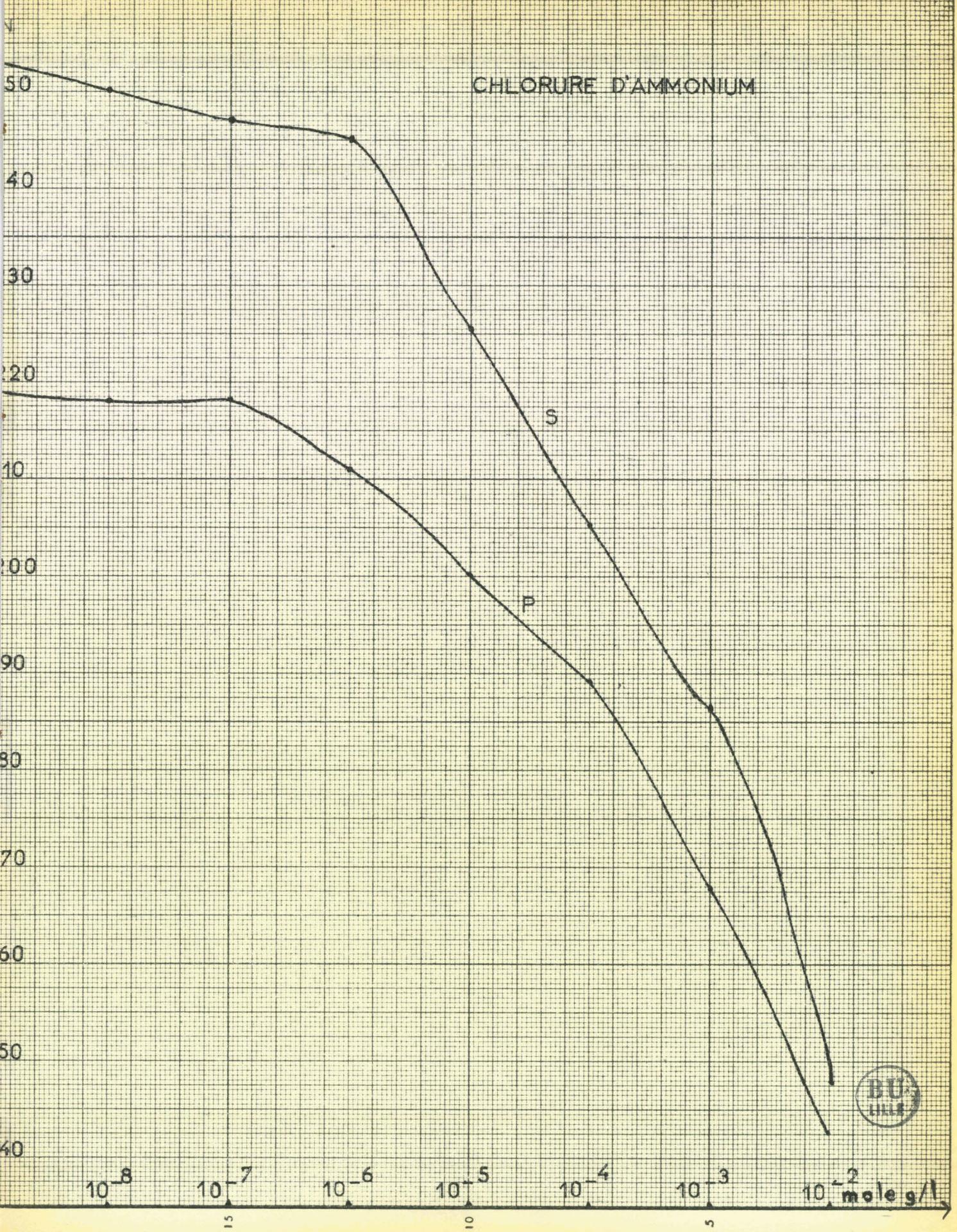
CHLORURE D'AMMONIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profondeur	M
10^{-2}	II.16.18.12.16.15.18.11 8.19.12.16.10.14.18.23	I48	I4.I6.I3.20.II.15.18.I3 I2.I2.5.22.20.I7.10.15	I45
10^{-3}	I9.I6.27.I6.24.12.I4.I6 I9.I7.I8.I8.21.22.21.I9	I86	I9.I7.II.I5.I6.I9.I7.I4 23.21.I7.I4.I7.24.I4.II	I68
10^{-4}	16.20.I9.I8.I6.22.I8.25 I8.30.24.23.20.I6.I8.I6	205	I8.I4.20.I5.24.I6.I2.25 I9.I7.20.20.24.18.I9.22	I89
10^{-5}	24.I7.24.I7.I6.24.20.25 25.22.I7.20.22.26.28.29	225	20.20.II.I8.I9.I6.28.24 24.I9.I7.I9.I7.30.23.16	200
10^{-6}	29.20.22.I8.I9.22.23.26 23.26.24.25.3I.28.20.26	245	20.I7.I8.23.I8.26.14.26 20.26.24.I6.24.26.23.28	2II
10^{-7}	3I.28.28.22.27.20.32.27 23.I8.20.27.28.23.I9.24	247	28.20.23.28.20.23.I8.27 2I.I8.22.I9.20.20.23.20	2I8
10^{-8}	29.27.I8.I9.23.27.32.20 I7.23.28.30.28.25.27.28	250	30.25.I9.23.23.32.II.25 I5.25.24.23.I5.I7.24.I9	2I8
TEMOIN	26.I9.I7.25.22.32.I9.23 26.20.28.32.33.28.37.I9	253	I3.20.26.24.24.2I.I8.22 25.25.30.24.20.I7.26.I5	2I9

Dilution $\frac{1}{10}$



CHLORURE D'AMMONIUM



CARBONATE D'AMMONIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement de profon- deur	M
10^{-2}	I6.I5.8.I6.9.I2.I7.9 II.I4.20.2I.I7.I5.I4.II	I35	I2.I8.II.I4.I8.2I.II.I2 9.7.I9.20.8.I2.9.II	I32
10^{-3}	I6.I2.I4.I6.I6.I4.18.I2 I8.II.I6.20.I2.24.I5.20	I58	I4.20.I9.I3.I6.I8.II.II I7.I4.I5.I4.I2.I6.I2.I9	I50
10^{-4}	I8.I3.I6.22.I3.24.I3.I5 26.20.I8.I9.20.23.I8.24	I88	I7.I4.I3.I2.I6.20.I0.I4 I8.I7.24.30.27.I8.I6.I9	I78
10^{-5}	I5.23.26.28.I8.22.I9.24 20.I9.2I.23.24.24.22.26	22I	I8.I6.25.I6.I6.25.22.25 24.I7.25.28.I6.22.20.7	20I
10^{-6}	I6.25.I7.23.22.34.2I.23 23.23.16.29.25.22.I8.30	229	I6.2I.I7.I0.24.22.20.20 26.3I.25.22.2I.2I.I8.20	207
10^{-7}	23.2I.29.27.20.25.29.I7 2I.30.20.2I.24.27.36.24	247	22.28.23.I8.I9.I8.I8.20 23.I7.20.24.23.20.26.24	214
10^{-8}	28.I5.27.38.28.I8.36.I9 20.28.23.26.20.32.25.I8	250	29.I0.20.I8.28.26.I4.36 I8.20.28.I7.I6.26.I9.25	219
TEMOIN		253		219



Dilution $\frac{I}{10}$

Bu

CARBONATE D'AMMONIUM

15

10

5

N

5

250

240

230

220

210

200

190

180

170

160

150

140

130

120

110

100

90

80

70

10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5} 10^{-6} 10^{-7} 10^{-8}

10^{-2} mole/l

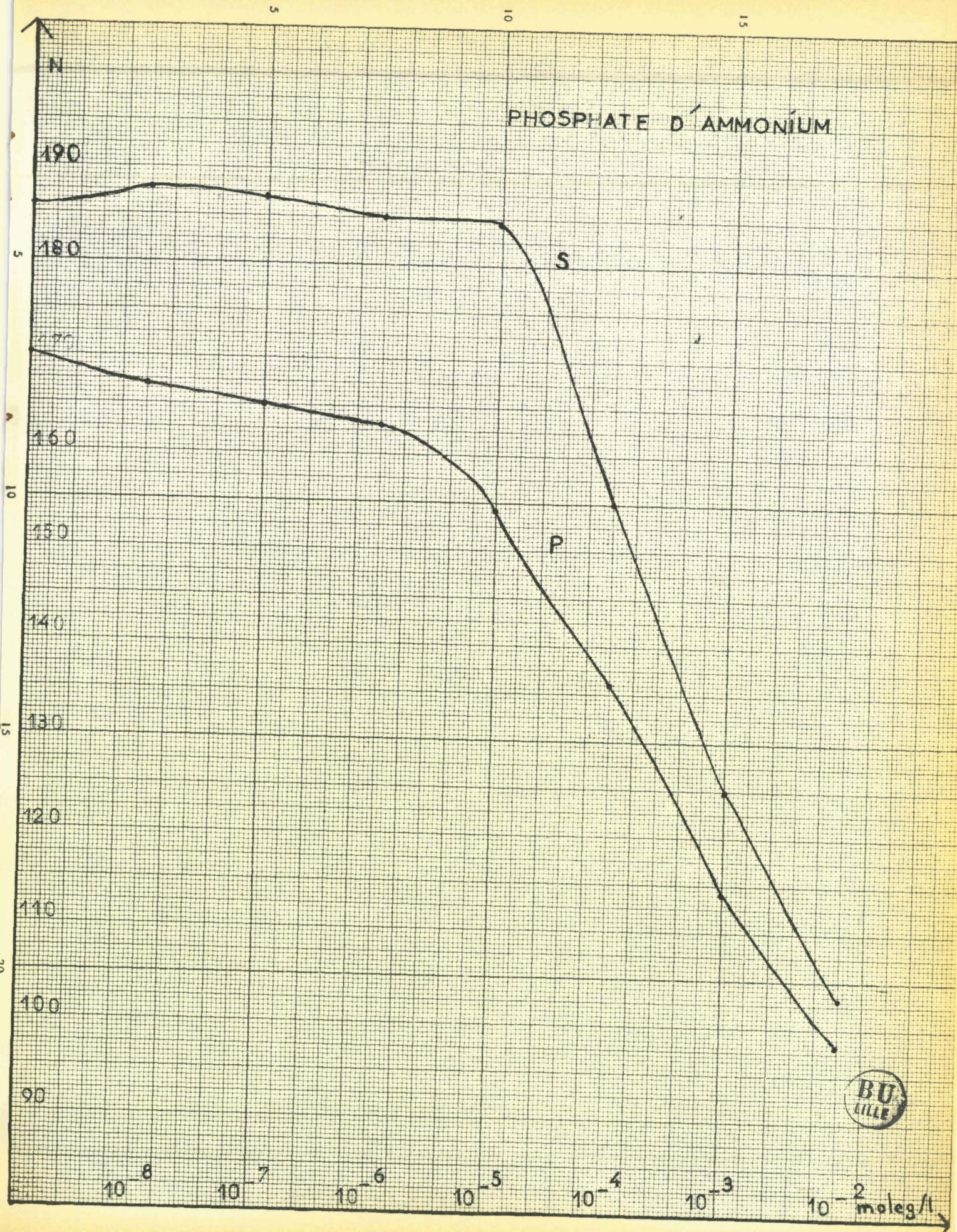
PHOSPHATE D'AMMONIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profondeur	M
10^{-2}	I4.I3.9.II.I2.2.9.8 I4.2I.8.I5.I0.9.7.3	I03	7.II.I4.I3.8.II.I3.I5 I5.I4.I.10.5.8.7.5.	98
10^{-3}	I8.I4.I3.2.8.II.I5.I4 2I.I7.8.I3.I7.I5.8.7	I25	I4.6.I8.II.I7.3.9.22 24.5.8.22.7.4.II.2	II4
10^{-4}	I9.27.I3.I0.I4.I5.I5.II I8.I3.22.9.23.I5.I1.I8	I55	I4.I7.II.8.I8.I7.8.2I I7.I4.I5.9.I3.I4.I5.7	136
10^{-5}	I7.I8.23.I3.I4.9.I8.23 I8.I6.I5.2I.23.I8.26.23	I84	I2.I8.I7.5.2I.5.I5.I8 I3.23.24.8.II.I4.2I.22	154
10^{-6}	I8.23.I7.II.I4.I6.I5.I6 I7.I5.I8.22.24.I8.25.27	I85	I7.22.I8.II.I4.I5.25.I3 24.26.I2.9.I5.I8.5.I7	I63
10^{-7}	24.26.32.I2.I8.24.I7.20 I9.I3.I4.24.I5.I8.I7.I5	I87	I2.25.I0.I3.I2.I2.22.I7 I5.I6.I8.I8.I8.I9.22.I5	I65
10^{-8}	I7.24.I8.I6.I5.I9.I4.26 2I.I9.26.I3.27.I5.I8.I3	I88	22.I3.I9.20.23.20.9.I8 20.7.I7.20.I8.I6.I7.I5	I67
TEMOIN	24.I6.I8.32.I7.23.I4.II I8.I9.24.2I.II.I8.I5.I7	I86	26.I0.20.28.20.I6.I0.I0 I4.23.27.I5.22.I5.25.I2	I70

Dilution $\frac{1}{10}$



PHOSPHATE D'AMMONIUM



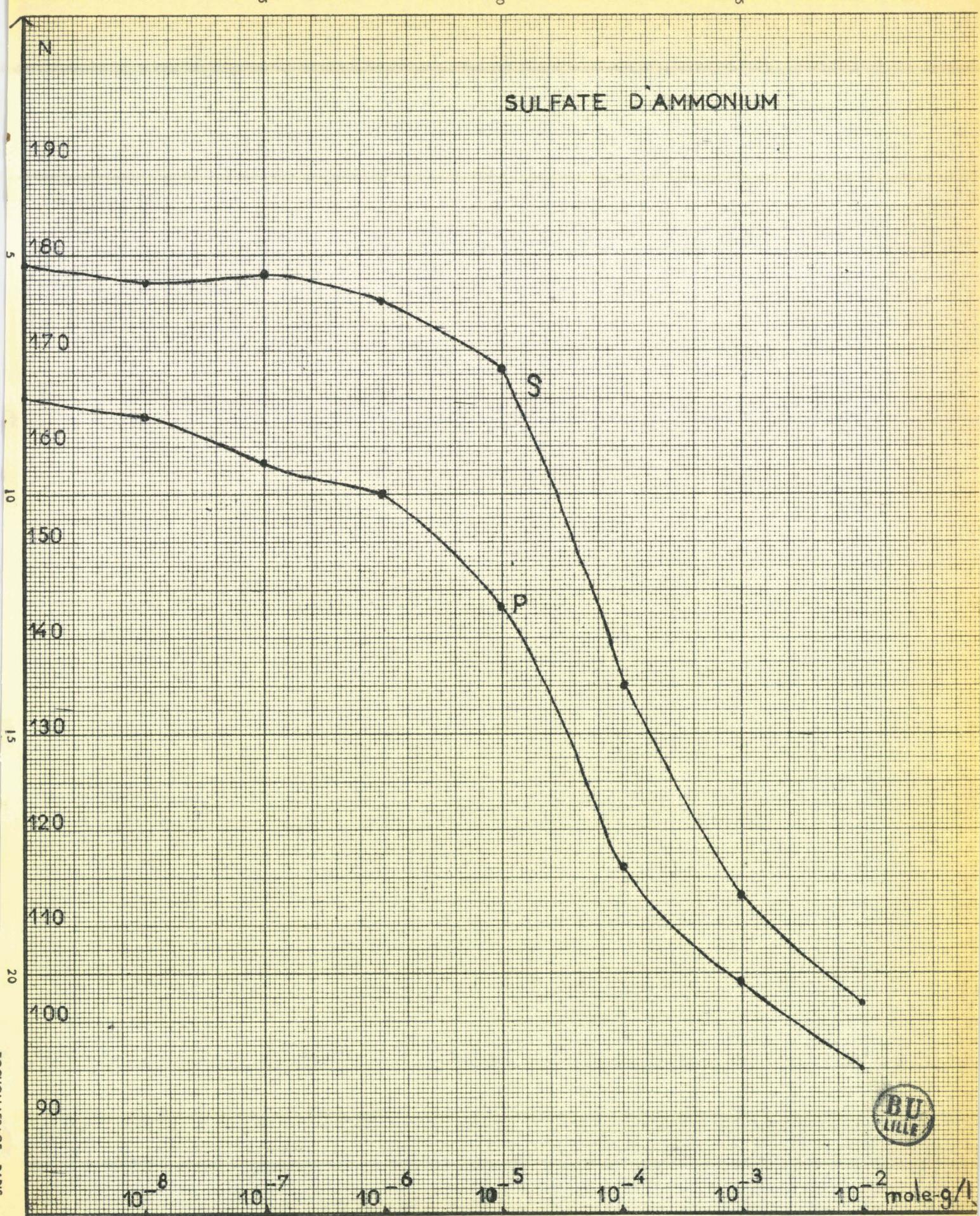
SULFATE D'AMMONIUM

Concentration	Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profondeur	M
10^{-2}	8.9.II.4.5.I0.9.I2 I4.I7.I3.8.I3.II.I2.I0	I02	I4.8.9.I2.23.7.4.I8 II.3.9.2.I3.5.7.8	95
10^{-3}	9.I4.2I.7.I2.I3.I5.8 7.9.II.I3.I4.I6.9.I3	II3	I7.I2.I4.9.II.I5.7.II I2.I4.I8.3.6.I2.5.I.	I04
10^{-4}	I8.I9.I4.I5.I7.23.9.I0 I6.5.I6.I2.I5.5.I0.I6	I36	I7.I2.I3.9.I4.I8.I2.7 I3.II.I0.I4.I2.II.8.6.	II6
10^{-5}	I4.I7.23.20.I8.I2.I5.2I 30.II.I4.I8.I6.I5.8.7	I68	I2.I5.I6.I8.I9.I4.I3.9 II.I5.I6.I4.22.I8.I2.5	I43
10^{-6}	23.I4.25.I7.I8.I6.I2.I4 26.I8.25.2I.I8.II.I7.I5	I75	I4.I7.23.II.I8.I2.I5.9 I4.I6.I8.II.2I.I5.I8.I7	I55
10^{-7}	25.I7.26.24.I4.I8.2I.I3 I7.II.I9.I6.I4.I8.I9.I7	I78	24.9.23.I4.I8.II.I7.8 I4.7.I7.I3.I4.I6.2I.I5	I58
10^{-8}	I4.I8.2I.I3.I7.I7.I8.I6 23.24.I7.22.I8.I2.2I.I3	I77	I3.I4.22.II.I7.I5.I9.23 I4.II.I5.I5.23.I8.22.20	I63
TEMOIN	27.I4.I8.22.I4.2I.I8.I7 2I.23.I7.I5.2I.I7.I0.I3	I79	24.I9.I5.I8.2I.I3.I3.II I4.I8.I5.I2.I7.22.I5.I8	I65

Dilution $\frac{1}{10}$



SULFATE D'AMMONIUM



Interprétation des résultats - Conclusion

Il y a lieu de faire des distinctions entre l'action des différents sels d'ammonium bien que tous se soient révélés nocifs.

Chlorure d'ammonium

Il est le plus toxique, d'ailleurs on sait que NH_4 est toxique et le chlorure en est la forme la plus diffusible. La courbe montre que sa toxicité intervient dès 10^{-6} ce qui constitue avec le sulfure de sodium nos deux seuils les plus faibles.

Carbonate d'ammonium

Lui aussi est toxique, la valeur aberrante de la courbe de surface pour 10^{-6} est probablement due à une erreur expérimentale.

Phosphate et sulfate d'ammonium

Ces deux sels sont par contre tolérés jusqu'à 10^{-5} , par la suite ils se montrent inhibiteurs.

Pour des concentrations plus faibles, on peut considérer que tous deux sont tolérés et même indifférents.

Notre milieu type ne devait donc pas recevoir de sels d'ammonium.

Remarque : NO_3 et NH_4 étant toxiques le problème est de savoir qu'elle est alors la source d'azote

de ces organismes.

Ici la bactérie en trouve dans la peptone, mais dans la nature elle est fixatrice d'azote gazeux. Ce que nous avons observé en culture s'explique par le comportement des fixateurs d'azote en général : dans la nature ils sont sensibles aux apports de sels minéraux azotes ; ceux-ci sont ou utilisés à des concentrations de l'ordre de 10^{-3} , ou toxiques.

Pour la ferrobactériale sur laquelle nous avons travaillé lessels minéraux azotés sont toxiques.

SEUILS DE TOXICITE DES SUBSTANCES QUI SE
SONT REVELEES NOCIVES

Nitrate de Potassium	10^{-5}
- Sodium	$10^{-6} - 10^{-5}$
- Magnesium	10^{-5}
- Calcium	10^{-5}
Sulfure de fer	10^{-4} pour les valeurs vérifiées
- calcium	10^{-5}
- sodium	10^{-6}
Chlorure d'ammonium	10^{-6}
Carbonate d'ammonium	10^{-5}
Phosphate d'ammonium	10^{-5}
Sulfate d'ammonium	10^{-5}

A C T I O N D E S U L T R A - V I O L E T S

Nous avons soumis un tube préparé avec notre milieu définitif à l'action des U.V. dans une enceinte spécialement aménagée à cet effet.

Le milieu de culture au bout de 10 jours était beaucoup plus limpide que dans les séries mises à l'étuve.

Du côté opposé à la lampe, on constatait sur la paroi du tube un léger dépôt d'hydrate ferrique limité à la partie supérieure du milieu de culture.

Un comptage effectué alors a fourni les résultats suivants :

Prélèvement en surface	M	Prélèvement en profondeur	M
II.5.7.9.I5.I2.II.I8 I8.I7.I2.I8.I3.I5.I3.I8	I3,2	0.0.0.0.I.0.0.2. 3.0.0.0.0.0.I.0.	0,43

Les rayons ultra-violets ont donc une action nocive sur le développement de ces organismes.

CONCLUSION

Nous avons sur le milieu synthétique élaboré au cours du diplôme de Potelle N : "Recherches des conditions optimales de développement d'une ferrobactéria-*le* : *Perabacterium spelei*", vérifie l'action de quatre types de substances.

- les carbonates
- les nitrates
- les sulfures
- les sels d'ammonium

De ces différentes substances, seuls les carbonates se sont révélés utiles au développement du *Perabacterium spelei*.

Les trois autres types de substances se sont révélés indifférents aux faibles concentrations et inhibiteurs à partir des concentrations 10^{-6} ou 10^{-5} selon les cas.

Notre contribution à l'établissement d'un milieu de culture propre au *Perabacterium spelei* se sera donc limitée à l'addition à ce milieu de carbonate de calcium et de carbonate de magnésium en un rapport défini.

Nous proposons donc le milieu de culture suivant :

3cc d'une solution de PO_4HK_2 au I/I000
5 - - - SO_4Mg - I/I00
I - - - ClNa - I,5/I000
I - - - SO_4Mn - I/I0 000
I5 - - - SO_4Fe - I/I0
I - - - $(\text{SO}_4)^3\text{Fe}_2$ - 0,5/I0 000
I - - - KCl - I/I0
61 mg de CO_3Ca
20 mg de CO_3Mg
et pour la partie organique
0,3 g de peptone
3 cc de bouillon de pommes-de-terre

Les rayons ultra-violets d'autre part se sont révélés être un moyen de stérilisation pour le *Perabacterium spelei* de même que des doses de nitrates, de sulfures et de sels d'ammonium qui n'atteignent jamais 10^{-3} .

Au cours de cette étude, nous avons également été amenés à vérifier un certain nombre de données.

L'ion Ca^{++} intervient dans l'équilibre qui conditionne la mise en tension du CO_2 , puis intervient comme obligo-élément, enfin vis-à-vis de l'ion Mg^{++} il a une action antitoxique.

Le rapport optimum $\frac{\text{Ca}^{++}}{\text{Mg}^{++}}$ se situe vers 2,57

Nous avons aussi pu retrouver les conditions naturelles dans lesquelles le *Perabacterium spelei* peut se développer et vérifier ainsi une propriété bien connue des fixateurs d'azote.

- 60 bis -

Perabacterium spelei

D'après une photo au microscope électronique

G = 22 000



BU
LILLE

Forme en bissac avec aiguilles d'hydroxyde ferrique.

BU
LILLE

B I B L I O G R A P H I E

CAUMARTIN V

Recherches sur une bactérie des argiles de cavernes et de sédiments ferrugineux

Compte rendu des séances de l'Académie des Sciences, tome CCLX p 1758.1760

CAUMARTIN V et RENAULT P. 1958

La corrosion biochimique dans un réseau kars-tique et la genèse du mondmilch - Notes biospéleologiques Tome XIII p. 87.109

CAUMARTIN V. 1959

Quelques aspects nouveaux de la microflore des cavernes. Annales de Spéléologie Tome XIV fasc. 1.2. p. 147.157.

POCHON et DE BARJAC

Traité de microbiologie des sols 1958 Dunod Paris

POCHON J

Manuel technique d'analyse microbiologique du sol 1954 Masson et Cie Paris

POTELLE N. D.E.S. 1960

SARTORY et MEYER

Microbiologie pratique 1950. L. Maloine Paris

T A B L E D E S M A T I E R E S

I INTRODUCTION

III TECHNIQUE OPERATOIRE

VI ETUDE DES CARBONATES

XXVII ETUDE DES NITRATES

XXXVIII ETUDE DES SULFURES

V L ETUDE DES SELS D'AMMONIUM

L VII ACTION DES ULTRA-VIOLETS

L VIII CONCLUSION

L XI BIBLIOGRAPHIE

102165882