

50376  
1961  
60

50376  
1961  
60

UNIVERSITE DE LILLE

FACULTE DES SCIENCES

---

MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION  
du DIPLOME d'ETUDES SUPERIEURES de SCIENCES NATURELLES  
(Physiologie végétale)

---

ACTION DU FER ET DE DIVERS EXTRAITS ORGANIQUES  
SUR LA CROISSANCE D'UNE FERROBACTERIALE

-----



Soutenu à LILLE, en Mai- Juin 1961  
par Gisèle DECOSTER

I N T R O D U C T I O N

Nous avons utilisé comme souche de Ferrobactériale une vieille réserve de carbonate de fer contenant le *Perabacterium spelei*. Cette bactérie vit habituellement dans les sédiments souterrains où elle a été découverte par V. CAUMARTIN en 1956. Une note annonçant cette découverte a été présentée à l'Académie des Sciences le 13 Novembre 1957. (t. 245, p. I.758-I.760 du 13 Novembre 1957).

C'est en raison de sa forme en bissac et de son abondance dans les argiles des grottes que la dénomination de *Perabacterium* (genre) *spelei* (espèce) lui fut attribuée.

En dehors des cavernes, on la retrouvera dans des sédiments appartenant à des époques géologiques très différentes ou sur des substrats comme le carbonate de fer des laboratoires et la rouille. "Elle semble toujours, sur ces milieux, responsable de la formation de  $Fe_2O_3$ "

Cette bactérie est "entourée d'une gaine ininterrompue de sesquioxyde de fer hydraté, qu'elle excrète souvent sous forme d'aiguille. Dans son milieu naturel, elle est microaérophyle et autotrophe.

Elle tire son carbone de la décomposition du carbonate de fer, exceptionnellement du carbonate de manganèse et son énergie vitale de l'oxydation des oxydes ferreux et manganeux qui en résultent.

Une première étude du métabolisme du *Perabacterium spelei* a été présentée par N. POTELLE dans un diplôme d'études supérieures soutenu en Décembre 1960. Elle aboutit à la formation d'un milieu synthétique de culture.

Nous nous proposons de reprendre cette étude du métabolisme de *Perabacterium spelei* dans le but d'obtenir un milieu répondant mieux aux exigences de cette bactérie.

Le travail effectué par N. POTELLE avait pour but d'obtenir un milieu répondant aux exigences de *Perabacterium spelei*, pour lequel elle recherchait un développement optimum. Elle a ainsi été amenée à étudier l'action de différentes substances minérales et organiques sur le développement de cette bactérie, et cela, en fonction de la concentration du milieu en ces substances.

Elle a montré que dans les équilibres ioniques, les valeurs des rapports  $\frac{Fe^{++}}{Fe^{+++}}$  et  $\frac{Cl^{-}}{SO_4^{--}}$  les plus favorables à la prolifération du *Perabacterium spelei*, sont bien déterminées :

$$\frac{\text{Fe}^{++}}{\text{Fe}^{+++}} = 39.600 \quad \frac{\text{Cl}^{-}}{\text{SO}_4^{--}} = 0,15.$$

Elle a, en outre, établi, puis recherché à quel taux il fallait introduire les substances organiques : peptone, bouillon de pommes de terre, soit :

- 0,3 gr. de peptone par tube, créant une concentration en peptone de 1/100
- 3 cc. d'un bouillon de pommes de terre préparé à partir de 800 grs. de pommes de terre et amené à 500 cc.

Notre travail aura pour but :

- de vérifier l'action du fer
- d'établir la composition d'un milieu ferreux idéal
- de vérifier l'action des extraits organiques.

A partir du milieu établi par N. POTELLE, nous avons tout d'abord vérifié l'action du  $\text{SO}_4\text{Fe}$ . Puis, au cours de chaque série de cultures, nous avons fait varier la nature du sel ferreux, celui-ci était introduit dans les tubes à des concentrations différentes, en fonction desquelles a pu être tracée la courbe de développement de la bactérie; les valeurs des rapports

$\frac{\text{Fe}^{++}}{\text{Fe}^{+++}}$  et  $\frac{\text{Cl}^{-}}{\text{SO}_4^{--}}$  les plus favorables ont été à nou-

veau déduites de nos observations.

Nous nous sommes proposés ensuite d'étudier l'action de différentes substances organiques, telles que :

- le glucose

- le fructose
- le lévulose
- le saccharose
- l'amidon
- la phytine
- l'extrait d'hémoglobine
- le bouillon de pommes de terre
- le bouillon de haricots
- l'extrait de blé en germination
- l'extrait de levure
- l'extrait de terre
- l'extrait d'argile de grotte
- l'extrait de rhizosphère

Enfin, nous avons composé un milieu idéal, sur lequel nous avons vérifié l'action des rayons ultraviolets.

Les cultures ont été faites en milieux liquides, en tubes à essais.

METHODE DE TRAVAIL POUR CHAQUE SERIE D'ESSAIS SUCCESSIFS :

La préparation de solutions, à concentrations déterminées, de diverses substances minérales et organiques devant entrer dans la composition du substrat de culture, a été réalisée à partir de solutions à concentration unitaire qui seront diluées selon le procédé

indiqué dans des tableaux.

L'alcalinité des milieux de culture a été obtenue en ajoutant dans chacun des tubes une pincée de  $\text{CO}_3\text{Ca}$

Préparation de la couche de *Perabacterium spelei* pour ensemencement :

Il s'agit d'extraire du carbonate de fer, les bactéries permettant un ensemencement ultérieur. On emploie, à cet effet, la technique "des mousses". Dans un petit Becher, on ajoute de l'eau distillée à une pincée de carbonate de fer. On introduit ensuite quelques paillettes d'un savon de Marseille stérilisé. L'ensemble est agité grâce à une palette rotative mue par un moteur. Au bout de quelques minutes, une mousse de savon se forme en surface, elle contient les bactéries. On prélève la mousse à laquelle on ajoute 3 cc. d'eau. On obtient ainsi un milieu riche en *Perabacterium spelei*.

Pour l'ensemencement, on introduit dans chacun des tubes 5 gouttes de suspension de *Perabacterium spelei*. Pour la stérilisation, les tubes bouchés, sont portés à l'autoclave où ils restent soumis pendant 20 à 25 minutes, à une température de  $130^\circ$ .

Un tel procédé s'est révélé ne nuire en rien au développement ultérieur des colonies.

L'étuve est réglée à 28° C, les tubes y sont maintenus 10 jours au bout desquels les bactéries sont étudiées.

### ETUDE DE LA CROISSANCE DE LA BACTERIE

On utilise un microscope dont l'objectif à immersion permet d'obtenir un grossissement égal à 1.000

Pour suivre le développement du microorganisme au cours des différents essais, nous avons utilisé la méthode des comptages à l'aide d'une cellule de THOMA.

Une telle cellule est constituée par une lame de verre présentant, dans sa partie centrale, un évidement avec un quadrillage sur le fond.

Chaque loge du quadrillage a :

$1/400 \text{ mm}^2$  de surface

$1/4.000 \text{ mm}^3$  de profondeur.

Une goutte calibrée du prélèvement à observer est placée sur cette cellule. Une lamelle optiquement planée la recouvre et s'applique exactement sur la lame.

Nous pouvons constater que la bactérie est le siège de pulsations rythmiques; nous déterminons le nombre de bactéries apparaissant dans chaque carré de la cellule. On effectue plusieurs prélèvements successifs. La moyenne des résultats est obtenue à partir de 16 carrés. Cette valeur servira de grandeur de comparaison pour l'étude

du développement du *Ferrobacterium spelei* en fonction des milieux qui lui sont offerts, et sera reportée sur un graphique.

Pour le tracé des courbes, on utilisera un papier semi-logarithmique. Les concentrations  $C$  seront portées sur l'axe des abscisses; le nombre de bactéries  $N$  par unité de cellule THOMA sera porté sur l'axe des ordonnées.

ACTION DU SULFATE FERREUX  
SUR LE DEVELOPPEMENT DU PERABACTERIUM SPELEI



Nous recherchons l'influence de la concentration du milieu en sulfate ferreux, sur la croissance du Parabacterium.

COMPOSITION DES TUBES

Dans chacun des tubes sont portés :

- 3 cc. de solution de  $\text{PO}_4 \text{ H K}_2$  à 1/1.000  $\text{gr/cm}^3$
- 5 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{ Mg}$  à 1/100  $\text{gr/cm}^3$
- 1 cc. de solution de  $\text{ClNa}$  à 1,5/1.000  $\text{gr/cm}^3$
- 1 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{ Mn}$  à 1/10.000  $\text{gr/cm}^3$
- 1 cc. de solution de  $(\text{SO}_4)_3 \text{ Fe}_2$  à 0,5/10.000  $\text{gr/cm}^3$
- des solutions de  $\text{SO}_4 \text{ Fe}$  aux concentrations de :

$$\frac{1}{10^6}, \quad \frac{1}{10^5}, \quad \frac{1}{10^4}, \quad \frac{1}{10^3}, \quad \frac{1}{10^2}$$

$$\frac{1}{10}, \quad 1$$

Les concentrations sont données en molécules gramme par litre :

- 0,3 gr. de peptone.
- 3 cc. de bouillon de pommes de terre défini pour un volume de 30 cc.

On effectue un apport de  $\text{CO}_3 \text{ Ca}$ .

Le Perabactérium étant une Ferrobactériale, l'étude de l'influence de la concentration du milieu en sels ferreux est particulièrement intéressante.

En effet, le milieu de culture est riche en carbonates apportés sous forme de  $\text{CO}_3\text{Ca}$ . Il s'établit un équilibre ionique entre  $\text{CO}_3\text{Ca}$ ,  $(\text{CO}_3\text{H})_2\text{Ca}$  et  $\text{CO}_2$ .

D'autre part, la présence de sel ferreux dans le milieu, permet l'existence de  $\text{Fe}^{++}$  à l'état ionique. Il y a donc formation de carbonate de fer  $\text{CO}_3\text{Fe}$ . Ce carbonate de fer se décomposera en  $\text{CO}_2 + \text{FeO}$ , l'oxyde ferreux étant ensuite oxydé en oxyde ferrique avec apport d'énergie. Cette énergie est utilisée en très faible partie à la décomposition de  $\text{CO}_3\text{Fe}$ , le reste permet la réduction de  $\text{CO}_2$  pour l'assimilation du carbone (bactérie chimico-synthétisante).

Il convenait de veiller à ce que le sel ferreux soit introduit et persiste sous cet état lorsque nous constituons les milieux à ensemer. Toutes les précautions nécessaires ont donc été prises pour éviter la transformation du sulfate ferreux en sulfate ferrique, cette oxydation s'opérant très rapidement si récipients et tubes ne sont pas impeccablement nettoyés.

Les différentes concentrations sont obtenues comme l'indique le tableau suivant :

$$\text{Poids moléculaire du } \text{SO}_4\text{Fe} = [32 + (4 \times 16) + 56] = 152$$

OBTENTION DES DIFFERENTES SOLUTIONS.

Tube	SO <sub>4</sub> Fe	Eau	Concentration en SO <sub>4</sub> Fe	Titre de la solution
Tube 0	15,2 gr.	100 cc.	1 molécule gr/l	A



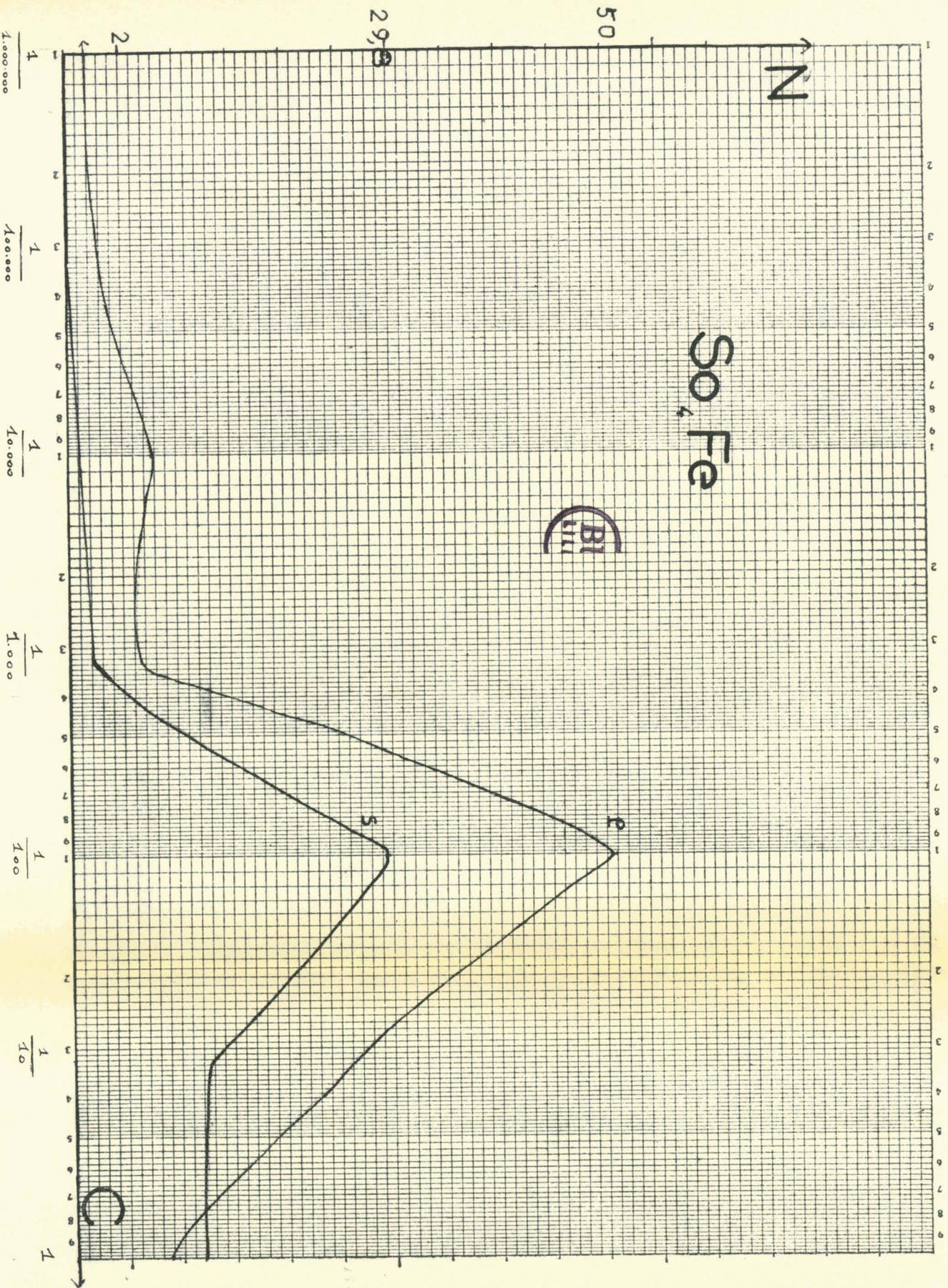
Tube	Titre de la solution	Eau	Concentration en SO <sub>4</sub> Fe	Titre de la solution
Tube 1	10 cc. de A	90 cc.	$\frac{1}{10}$ molé.gr/l	B
Tube 2	10 cc. de A	990 cc.	$\frac{1}{100}$ molé.gr/l	C
Tube 3	10 cc. de C	90 cc.	$\frac{1}{1000}$ molé.gr/l	D
Tube 4	10 cc. de C	990 cc.	$\frac{1}{10000}$ molé.gr/l	E
Tube 5	10 cc. de E	90 cc.	$\frac{1}{100000}$ molé.gr/L	F
Tube 6	10 cc. de E	990 cc.	$\frac{1}{1.000.000}$ molé.gr/l	G

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES

-----

RESULTATS DES COMPTAGES EFFECTUES :

TUBE	Concentration en SO <sub>4</sub> Fe	Rapport $\frac{Fe^{++}}{Fe^{+++}}$	Prélèvement en surface N.bactéries p. unité THOMA	MOYENNE	Prélèvement en profondeur N.bactéries p. unité THOMA	MOYENNE
Tube 0	I molé.gr/l.	0,0002	I8-I2-I4-II-I0 7-I5-I7-II-9 5-I9-I0-II-I4 I2-	I2	II-I0-8-9-I2 7-I0-II-I0-8 9-I0-7-8-9 5-	9
Tube 1	I molé. IO gr/l.	0,0005	I5-I0-I7-I3-7 I7-I0-II-I8-I6 I3-I5-I6-I2-II 6-	I2,9	I28-25-25-28-26 I27-26-25-29-25 I26-27-30-23-3I I24-	26,6
Tube 2	I molé I00 gr/l.	0,005	I29-36-29-35-29 I30-34-28-20-3I I23-35-32-25-24 I37-	29,8	I49-46-52-50-47 I53-49-5I-50-54 I48-47-55-48-50 I5I-	50
Tube 3	I molé I.000 gr/l.	0,2	I-2-0-2-3 0-4-I-4-3 I-3-I-2-2 3-	2	I8-6-7-5-8 I9-5-6-8-7 I6-5-7-6-5 I6-	6,5
Tube 4	I molé I0.000 gr/l.	2	I-2-0-I-3 0-I-I-2-0 2-0-0-I-2 0-	I	I8-7-6-9-5 I9-9-7-9-8 I8-6-9-8-9 I8-	7,8
Tube 5	I molé I00.000 gr/l	200		0	I3-2-4-5-I I3-2-4-3I4 I5-2-3-2-I I4-	3
Tube 6	I molé.gr/l I.000.000	500		0	I3-4-0-I-2 I3-I-0-4-2 I3-2-I-2-I I3-	2



RESULTATS :

L'examen des courbes tracées montre que :

- Lorsque la concentration du milieu de culture en sulfate ferreux varie entre  $1/10^6$  et  $1/10^3$ , le nombre moyen de bactéries par unité de la cellule de THOMA est faible.

Nous ne trouvons pratiquement pas

d'organisme pour une concentration de  $1/10^6$

2 organismes par carré pour une concentration de  $1/10^3$

- La concentration en  $SO_4Fe$  croissant, la pente des courbes augmente brusquement, témoignant d'un accroissement plus rapide du nombre de bactéries; on peut en conclure que le milieu s'améliore et un développement optimum du *Perabacterium*.

30 bactéries par unité pour un prélèvement de surface

50 bactéries par unité pour un prélèvement effectué en profondeur.

est obtenu pour une concentration en sel ferreux égale à  $1/100$ .

Le meilleur développement du *Perabacterium spelei* en profondeur est dû au caractère nettement microaérophyle de la souche qui doit vivre à l'abri des fortes concentrations d'oxygène entraînant l'oxydation spontanée du fer ferreux.

- Pour une concentration supérieure à  $1/100$ , la pente des courbes diminue rapidement jusqu'à la concentration égale à  $1/10$ ; le milieu convient moins bien à la bactérie.
- Pour les concentrations supérieures à  $1/10$ , la courbe se stabilise.



Nombre d'ions  $\text{Cl}^-$  dans 1 cc. de  $\text{Cl Na}$  à 1,5/1.000

$$\frac{0,0015}{58,5} = 0,0002$$

Nombre d'ions  $\text{Cl}^-$  dans 1 cc. de  $\text{K Cl}$  à 1/10

$$\frac{0,1}{74,5} = 0,0013$$

Total des ions  $\text{Cl}^-$  dans le milieu

$$0,0002 + 0,0013 = 0,0015$$

Nombre d'ions  $\text{SO}_4^{--}$  dans 15 cc. de  $\text{SO}_4\text{Fe}$  à 1/10

$$\frac{0,1 \times 15}{152} = 0,01$$

Nombre d'ions  $\text{SO}_4^{--}$  dans 5 cc. de  $\text{SO}_4\text{Mg}$  à 1/100

$$\frac{0,01 \times 5}{120,3} = 0,00041$$

Nombre d'ions  $\text{SO}_4^{--}$  dans 1 cc. de  $\text{MnSO}_4$  à 1/10.000

$$\frac{0,0001}{151} = 0,0000007$$

Nombre d'ions  $\text{SO}_4^{--}$  dans 1 cc. de  $(\text{SO}_4)_3 \text{Fe}_2$  à 0,5/10.000

$$\frac{0,00005 \times 3}{400} = 0,00000037$$

Total des ions  $\text{SO}_4^{--}$  dans le milieu :

$$0,01 + 0,00041 + 0,0000007 + 0,00000037 = 0,0104$$

$$\frac{\text{Total des ions } \text{Cl}^-}{\text{Total des ions } \text{SO}_4^{--}} = \frac{0,0015}{0,0104} = 0,14$$

$$\text{Total des ions } \text{SO}_4^{--} = 0,0104$$

Remplaçons le sulfate ferreux par le chlorure ferreux sans changer le rapport des concentrations ioniques

$\frac{Cl^-}{SO_4^{--}}$  ni le nombre d'ions Fe.

La composition du nouveau milieu répondant à ces exigences, s'établit donc comme suit :

- 3 cc. d'une solution de  $PO_4 H K_2$  à 1/1.000 g/cc
- 5 cc. d'une solution de  $SO_4 Mg$  à 1 molécule g/litre
- 1 cc. de solution de  $SO_4 Na_2$  à 1 molécule g/l.
- 1 cc. de solution de  $SO_4 Mn$  à 1 molécule g/l.
- 15 cc. de solution de  $Cl_2 Fe$  à 0,08 molécule g/l.
- 1 cc. de solution de  $(SO_4)_3 Fe_2$  à 0,5/10.000 g/cc.
- 1 cc. de solution de  $SO_4 H_2$  à 1 molécule g/l.
- 0,3 gr. de peptone.
- 3 cc. de bouillon de pommes de terre.
- une pincée de carbonate de calcium.

Nous rechercherons par l'utilisation de ce milieu l'influence de la concentration en chlorure ferreux sur la croissance du *Perabacterium spelei*.

Les différentes concentrations des solutions de  $Cl_2 Fe$  sont obtenues comme l'indique le tableau suivant.

OBTENTION DES DIVERSES SOLUTIONS

Tube	Cl <sub>2</sub> Fe	Eau	Concentration en Cl <sub>2</sub> Fe	Titre de la solution
Tube 1	8 gr.	100 cc.	$\frac{8}{100}$ gr./l.	A



Tube	Titre de la solution	Eau	Concentration en Cl <sub>2</sub> Fe	Titre de la solution
Tube 2	10 cc. de A	90 cc.	$\frac{8}{1.000}$ gr./l.	B
Tube 3	10 cc. de A	990 cc.	$\frac{8}{10.000}$ gr./l.	C
Tube 4	10 cc. de C	90 cc.	$\frac{8}{100.000}$ gr./l.	D
Tube 5	10 cc. de C	990 cc.	$\frac{8}{1.000.000}$ gr./l.	E

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES

-----

Résultats des comptages effectués

Tube	Concentration en Cl <sub>2</sub> Fe	Prélèvement en surface N. bactéries p.unité THOMÁ	Moyenne	Prélèvement en profondeur N. bactéries p.unité THOMÁ	Moyenne
Tube 1	$\frac{8}{100}$ gr./l.		0		0
Tube 2	$\frac{8}{1.000}$ gr./l.	9. 8. 7. 10. II. 8. 9. 7. 9. 8. 9. 6. II. 6. 7. 10.	8,4	II. 8. 10. 9. 7. 9. 8. 7. 8. 9. 9. 7. 10. 9. 6. 7.	8
Tube 3	$\frac{8}{10.000}$ gr./l.	I. 0. 2. 0. I. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 1. 0. 2. 1. 0.	0,6	I. 0. 0. 0. 0. 2. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 1.	0,4
Tube 4	$\frac{8}{100.000}$ gr./l.	0. 1. 0. 2. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 1. 0.	0,4	I. 0. 0. 0. 0. 0. 2. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 1.	0,3
Tube 5	$\frac{8}{1.000.000}$ gr./l.		0		0

$Cl_2Fe$

N

RI  
1111

25

20

1.000.000

100.000

10.000

1.000

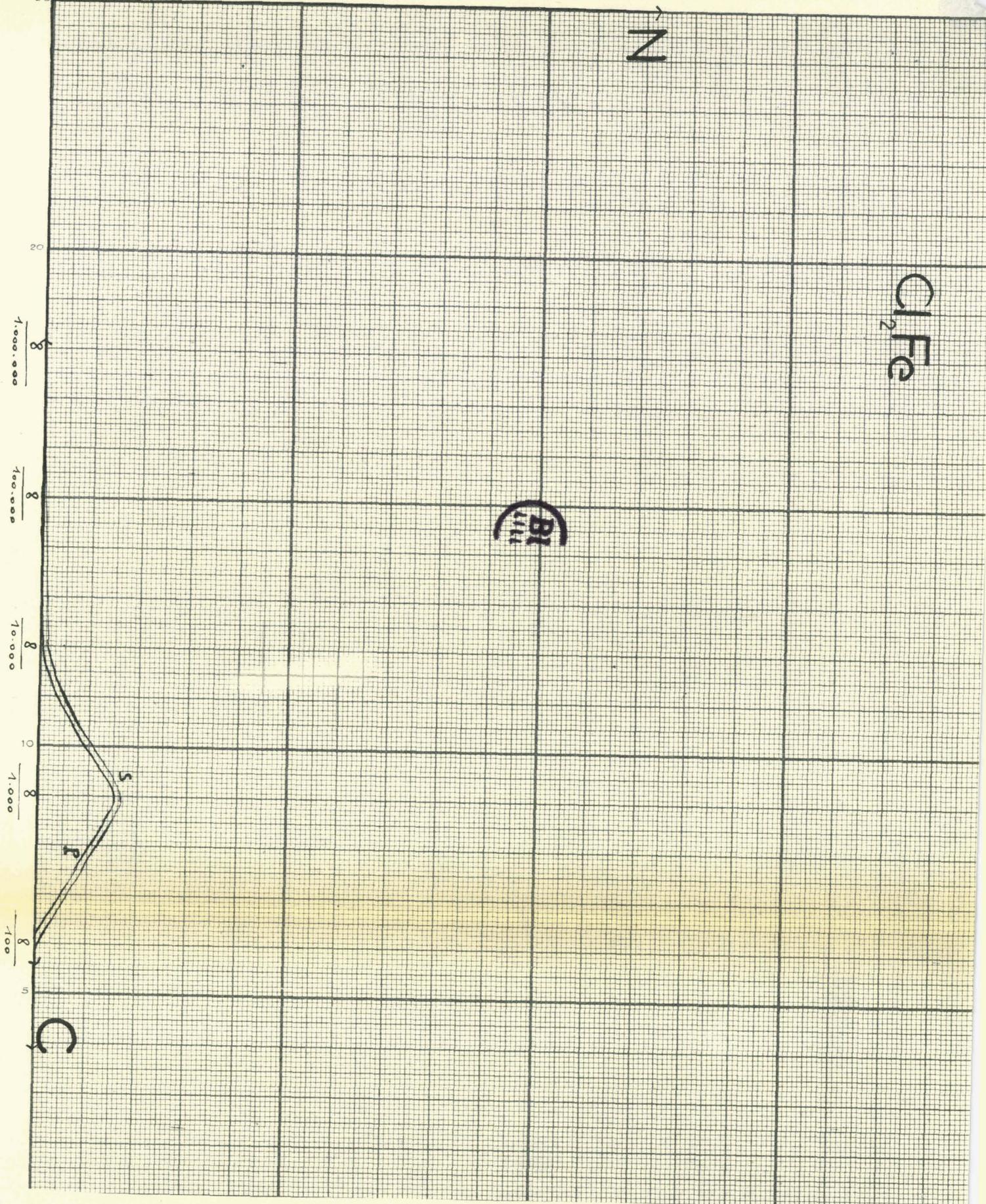
100

5  
534

5

P

C



RESULTATS :

L'examen des courbes tracées montre que :

- Lorsque la concentration du milieu de culture en chlorure ferreux est inférieure ou supérieure à  $8/10^3$ , le nombre moyen de bactéries par unité de la cellule de THOMA est voisin de zéro.

Nous remarquons qu'il n'y a

- pas d'organisme pour une concentration de  $1/10^6$
- 0,6 organisme par unité de cellule THOMA pour une concentration de  $1/10^4$
- pas d'organisme par unité de cellule THOMA pour une concentration de  $1/10^2$

Le milieu permet d'obtenir

8 bactéries par unité pour un prélèvement de surface

8 bactéries par unité pour un prélèvement effectué en profondeur.

pour une concentration en chlorure ferreux égale à  $8/1.000$

En-deçà et au-delà de cette valeur, les milieux ne semblent pas convenir à la bactérie.

Or, dans l'étude précédente, nous avons vu que pour maintenir le rapport des concentrations ioniques  $\frac{Cl^-}{SO_4^{--}}$  entre les valeurs favorables au développement de la bactérie, il nous fallait introduire 15 cc. d'une solution de chlorure ferreux à la concentration de 0,08 molécule gr./l., ce qui correspond en poids à la valeur de 10 grammes de  $Cl_2Fe$  pour 1.000 cc. d'eau.

Le maximum de la courbe a été obtenu pour une concentration en chlorure ferreux égale à 8 grammes pour 1.000 cc. d'eau. Le résultat s'avère normal, car pour cette concentration en chlorure ferreux dans le milieu, la valeur du rapport des concentrations ioniques  $\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}}$  est maintenue dans les limites favorables à un bon développement du *Perabacterium spelei*.

La courbe traduisant le développement du *Perabacterium spelei* dans la partie supérieure du tube se place, comme dans la série suivante, légèrement au-dessus de la courbe traduisant le développement en profondeur, ce qui confirme la microaérophilie.

Comparons cette courbe avec celle de l'expérience précédente, on constate que, pour une valeur voisine du rapport ionique  $\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}}$  égale à 0,17, le développement du *Perabacterium* s'avère meilleur lorsque l'apport d'ions ferreux se fait sous forme de sulfates plutôt que sous la forme de chlorures.

En effet, le développement maximum, lorsque les ions  $\text{Fe}^{++}$  sont introduits sous forme de sulfate :  
- 50 bactéries pour un prélèvement de profondeur est obtenu pour une concentration en  $\text{SO}_4\text{Fe}$  égale à 1/100 molécule gr/litre.

Le développement maximum lorsque les ions  $\text{Fe}^{++}$  sont introduits sous forme de chlorure

- 8 bactéries pour un prélèvement de profondeur est obtenu pour une concentration en  $\text{Cl}_2\text{Fe}$  égale à 8/1.000 g/cc.

Il faut incriminer ici la toxicité des sels de fer sous forme de chlorures.

ACTION DU SULFATE FERRIQUE  
SUR LE DEVELOPPEMENT DU PERABACTERIUM SPELEI

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

Dans chacun des tubes sont portés :

- 3cc. de solution  $\text{PO}_4\text{H K}_2$  à 1/1.000  $\text{gr/cm}^3$
- 5cc. de solution de  $\text{SO}_4\text{Mg}$  à 1/100  $\text{gr/cm}^3$
- 1cc. de solution de  $\text{Cl Na}$  à 1,5/1000  $\text{gr/cm}^3$
- 1 cc. de solution de  $\text{SO}_4\text{Mn}$  à 1/10.000  $\text{gr/cm}^3$
- 15cc. de solution de  $\text{SO}_4\text{Fe}$  à 1/100 molécule gramme/litre
- 1cc. de solution de  $\text{K Cl}$  à 1/10  $\text{gr/cm}^3$
- 0,3 gr. de peptone
- 3cc. de bouillon de pommes de terre
- on effectue un apport de  $\text{CO}_3\text{Ca}$

Le sulfate ferrique étant facilement hydrolisable, surtout à la température de stérilisation, on effectue après celle-ci, l'apport des solutions de  $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$  aux concentrations de :

<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>
$10^7$	$10^6$	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^2$

Les différentes concentrations des solutions de  $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$  sont obtenues comme l'indique le tableau suivant :

Tube	$(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$	Eau	Concentration en $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$	Titre de la solution
Tube 1	0,5 gr.	100 cc.	$\frac{0,5}{100}$ gr./l.	A



Tube	Titre de la solution	Eau	Concentration en $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$	Titre de la solution
Tube 2	10 cc. de A.	90 cc.	$\frac{0,5}{1.000}$ gr/l.	B
Tube 3	10 cc. de A.	990 cc.	$\frac{0,5}{10.000}$ gr./l.	C
Tube 4	10 cc. de C.	90 cc.	$\frac{0,5}{100.000}$ gr./l.	D
Tube 5	10 cc. de C.	990 cc.	$\frac{0,5}{1.000.000}$ gr/l.	E
Tube 6	10 cc. de E.	90 cc.	$\frac{0,5}{10.000.000}$ gr/l.	F

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS  
CHACUN DES TUBES

Resultats des comptages effectués :

Tube	Concentration en $(SO_4)_3Fe_2$	Prélèvement en surface N. bactéries p. unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N. bactéries p. unité THOMA	Moyenne
Tube 1	$\frac{0,5}{100}$ gr./l	7. 9. 2. 7. 6. 7. 2. 9. 8. 6. 3. II. 4. 8. 7. 3.	6,2	9. 7. 8. IO. IO. I4. II. I2. 8. 7. 6. 9. 9. IO. 7. I6.	8,9
Tube 2	$\frac{0,5}{1.000}$ gr./l	IO. 8. 7. 9. 6. 5. 4. 9. 5. 2. 8. 4. 6. 0. 2. 4.	6	2. 7. 5. II. 6. 9. IO. 7. 5. 8. 9. 4. 3. 2. 3. 3.	5,9
Tube 3	$\frac{0,5}{10.000}$ gr./l	12. 12. II. I3. 15. I4. 15. I3. I4. II. I2. I3. 15. II. I3. I6.	I3, I	IO. 3. 4. 6. 5. 7. 8. 3. 8. 9. 5. 7. I. II. 5. 7.	6, I
Tube 4	$\frac{0,5}{100.000}$ gr./l	24. 31. 26. 35. 50. 28. 34. 26. 26. 25. 29. 26. 31. 28. 32. 55.	3I	I2. I4. I3. I5. II. IO. I2. 9. I4. IO. I8. I3. IO. I2. I4. I5.	I2, I
Tube 5	$\frac{0,5}{1.000.000}$ gr./l.	3. 0. 2. 5. 2. 2. 5. 3. 5. 3. 4. 2. 0. 4. 2. 2.	2,7	5. 6. 2. 1. 0. 3. 4. 4. 0. 8. 4. 3. 2. I. 3. I.	3
Tube 6	$\frac{0,5}{10.000.000}$ gr./l	I. 0. 0. 0. 0. 2. 0. I. I. 0. 0. I. 0. I. 0. I.	0,5	0. 0. 0. I. I. 0. 0. 2. I. 0. 2. 0. 0. I. 0. 0.	0,5



RESULTATS

Nous avons étudié le développement du Parabactérium spelei sur des milieux dont les concentrations en sulfate ferrique s'échelonnaient entre  $\frac{0,5}{10^7}$  et  $\frac{0,5}{10^2}$

L'étude des courbes obtenues montre que le  $(SO_4)_3Fe_2$  pour des concentrations inférieures à 0, /10.000.000, le développement de la bactérie est très peu important, compris que :

0,5 bactérie par unité de THOMA pour une concentration de  $0,5/10^7$

Pour une faible augmentation de concentration, la pente des courbes augmente rapidement, témoignant d'un accroissement plus rapide du nombre de bactéries.

La concentration en  $(SO_4)_3 Fe_2$  croissant, le milieu continue à s'améliorer et un développement optimum du Parabacterium,

31 bactéries par unité de THOMA pour un prélèvement de surface.

12,1 bactéries par unité de THOMA pour un prélèvement effectué en profondeur

est obtenu pour une concentration en sel ferrique égale à  $0,5/100.000$

Puis la courbe décroît rapidement et enfin se stabilise pour la concentration en sel ferrique égale à  $0,5/1.000$ . Pour cette valeur, le développement de la bactérie est de :

6 bactéries par unité pour un prélèvement de surface.

Les sels ferriques agissent ici comme substances oligodynamiques.



Nombre d'ions  $\text{Cl}^-$  dans  $x$  cc. de  $\text{Cl}_2\text{Fe}$  :

$$\frac{0,001 \times x}{127} = 0,000007 x$$

Nombre d'ions  $\text{SO}_4^{--}$  dans  $y$  cc. de  $\text{SO}_4\text{Fe}$  :

$$\frac{0,01 \times y}{152} = 0,000065 y$$

Dans le milieu déterminé au cours de l'expérience précédente, nous avons calculé le nombre d'ions  $\text{SO}_4^{--}$  il est égal à 0,058, ce qui porterait le nombre total d'ions  $\text{SO}_4^{--}$  dans la solution à

$$0,058 + 0,000065 y$$

D'où :

$$\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}} = \frac{0,000007 x}{0,058 + 0,000065 y}$$

$$\text{D'autre part : } x + y = 15$$

Donc :

$$\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}} = \frac{0,000007 (15-y)}{0,058 + 0,000065 y}$$

Nous ferons varier le rapport ionique  $\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}}$  de 0,05 à 2, il nous sera facile d'en déduire les valeurs de  $x$  et de  $y$  c'est-à-dire les quantités respectives de  $\text{Cl}_2\text{Fe}$  et de  $\text{SO}_4\text{Fe}$  à introduire dans le milieu.

Il faudra pour cela faire varier les concentrations des différents sulfates entrant dans la composition du milieu de culture.

Résumons le bilan minéral des différents tubes dans le tableau suivant :

Tubes	$\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4}$	QUANTITE DE		C O N C E N T R A T I O N					
		$\text{Cl}_2\text{Fe}$ à	$\text{SO}_4\text{Fe}$ à	des 5cc	de 1cc	de 1cc	de 1cc	de 1cc	de 3cc
		$\text{I}/10^3$	$\text{I}/10^2$	$\text{SO}_4\text{Mg}$	$\text{SO}_4\text{Na}_2$	$\text{SO}_4\text{Mn}$	$\text{SO}_4\text{K}_2$	$(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$	$\text{PO}_4\text{H K}_2$
INTRODUITE		INTRODUITS EN MOLECULE GRAMME/LITRE							
I	0,05	11,1cc	3,9cc	$\frac{\text{I}}{1.000}$	$\frac{\text{I}}{10}$	$\frac{\text{I}}{100}$	$\frac{\text{I}}{10}$	$\frac{0,5}{10.000}$ gr./cc.	$\frac{\text{I}}{1.000}$ gr./cc.
2	0,1	9 cc	6 cc	$\frac{\text{I}}{1.000}$	$\frac{\text{I}}{100}$	$\frac{\text{I}}{100}$	$\frac{\text{I}}{100}$	$\frac{0,5}{10.000}$ gr./cc.	$\frac{\text{I}}{1.000}$ gr./cc.
3	0,5	12,6cc	2,4cc	$\frac{\text{I}}{100.000}$	$\frac{\text{I}}{1000}$	$\frac{\text{I}}{1000}$	$\frac{\text{I}}{1000}$	$\frac{0,5}{10.000}$ gr./cc.	$\frac{\text{I}}{1.000}$ gr./cc.
4	I	13,8cc	1,2cc	$\frac{\text{I}}{100.000}$	$\frac{\text{I}}{1000}$	$\frac{\text{I}}{10000}$	$\frac{\text{I}}{1000}$	$\frac{0,5}{10.000}$ gr./cc.	$\frac{\text{I}}{1.000}$ gr./cc.
5	1,5	14 cc	1 cc	$\frac{\text{I}}{1000000}$	$\frac{\text{I}}{10000}$	$\frac{\text{I}}{100000}$	$\frac{\text{I}}{10.000}$	$\frac{0,5}{10.000}$ gr./cc.	$\frac{\text{I}}{1.000}$ gr./cc.

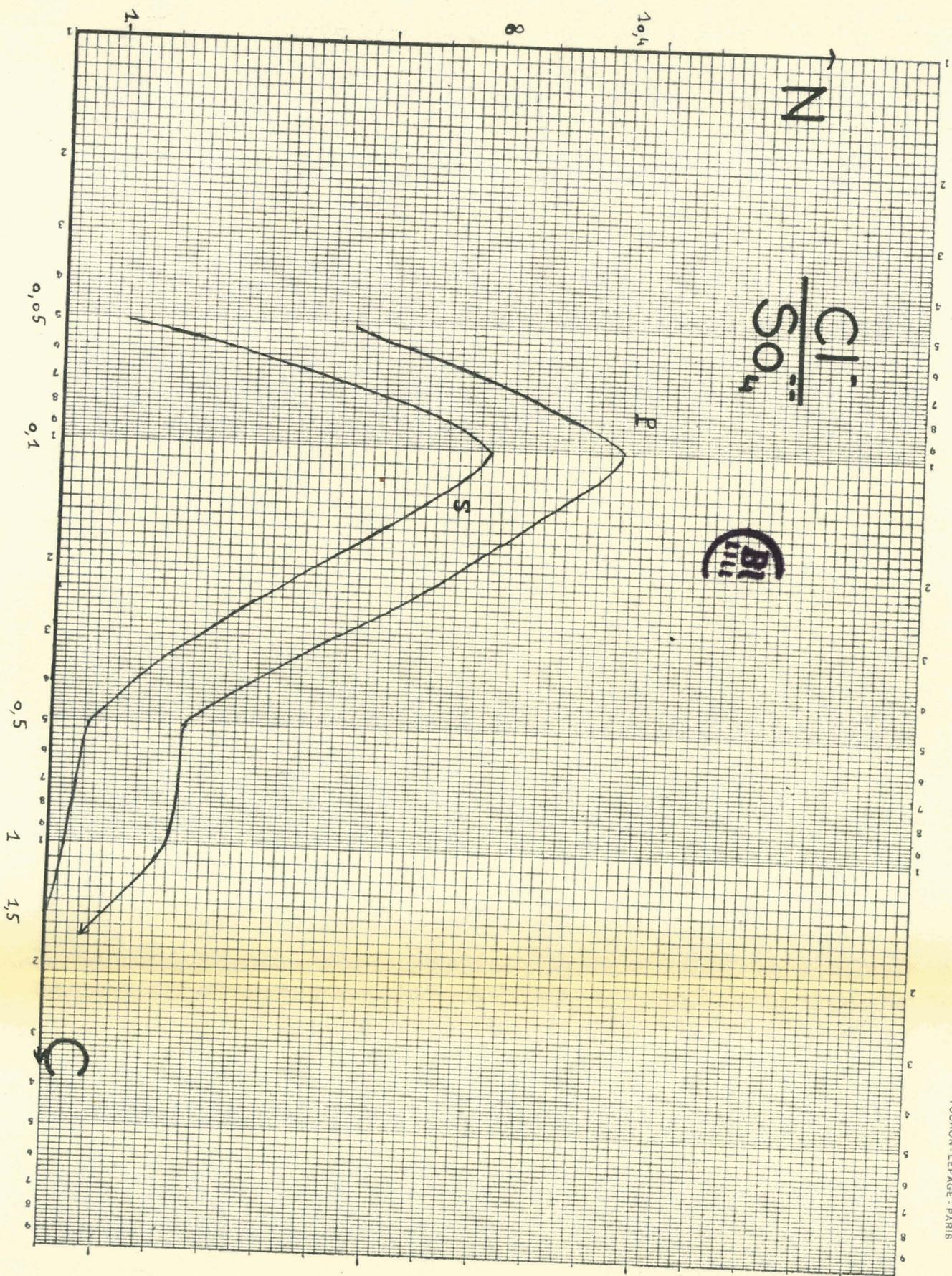
ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES

-----

Résultats des comptages effectués :

Tube	$\frac{Cl^-}{SO_4}$	Prélèvement en surface N. bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N. bactéries p.unité THOMA	Moyenne
I	0,05	0. 0. 3. 4. 0. 0. 0. 3. 1. 2. 0. 0. 3. 4. 0. 0.	1,2	8. 8. 5. 6. 4. 6. 4. 7. 7. 6. 3. 2. 9. 5. 3. 4.	5,4
2	0,1	9. 7. 9. 9. 2. 13. 11. 4. 8. 6. 11. 9. 10. 6. 6. 8.	8	12. 11. 11. 10. 9. 13. 14. 8. 12. 9. 8. 11. 10. 8. 11. 5.	10,4
3	0,5	0. 0. 2. 2. 0. 0. 1. 1. 1. 0. 0. 0. 3. 0. 1. 1.	0,7	0. 3. 4. 0. 0. 3. 8. 2. 2. 2. 2. 1. 3. 4. 1. 5.	2,5
4	I	0. 0. 0. 3. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 2. 0. 0. 0.	0,3	4. 1. 0. 0. 7. 5. 1. 0. 2. 3. 4. 1. 0. 6. 0. 2.	2,2
5	I,5		0	0. 0. 1. 3. 1. 1. 0. 2. 2. 1. 2. 0. 1. 1. 0. 1.	I
Tube témoin		19. 14. 12. 20. 17. 20. 8. 10. 21. 16. 16. 12. 16. 18. 13. 16.	15,5		

La composition du tube témoin est basée sur le milieu de N.POTELLE  
L'apport d'ions ferreux se fera donc par l'introduction de 15 cc. d'une  
solution de  $SO_4Fe$  à 1/10.



RESULTATS :

Conformément aux résultats établis, l'équilibre entre ions  $\text{Cl}^-$  et  $\text{SO}_4^{--}$  le plus favorable au bon développement de Perabacterium apparaît exister lorsque le rapport  $\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}}$  est voisin de 0,10.

En effet, le meilleur développement :

- 8 bactéries pour le prélèvement de surface
  - 10,4 bactéries pour le prélèvement de profondeur
- a été obtenu lorsque le rapport ionique  $\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}}$  était égal à 0,1.

Le développement du tube témoin étant de

- 15,5 bactéries pour un prélèvement de surface
- il semble qu'un meilleur développement du Perabacterium est obtenu lorsque le fer ferreux est introduit entièrement sous forme de  $\text{SO}_4\text{Fe}$ . En effet, les chlorures ferreux s'oxyderaient et deviendraient ainsi toxiques.

Le développement du Perabacterium s'étant avéré optimum pour la valeur du rapport  $\frac{\text{Cl}^-}{\text{SO}_4^{--}} = 0,10$ , il en résulte que cet équilibre sera maintenu entre chlorures et sulfates constitutifs des milieux de culture préparés ultérieurement.



ou 2 cc. des solutions de saccharose aux mêmes concentrations que les solutions de glucose, comme l'indique le tableau suivant

ou 2 cc. des solutions de fructose aux mêmes concentrations que dans l'expérience précédente.

ou 2 cc. des solutions de lévulose aux diverses concentrations indiquées dans le tableau suivant.

ou 2 cc. des suspensions d'amidon aux diverses concentrations obtenues comme l'indique le tableau suivant.

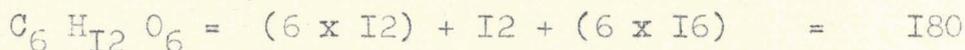
Chaque fois, nous effectuerons l'apport de carbonate de calcium.

B - LES TABLEAUX résument l'obtention des diverses concentrations des solutions de glucose, de saccharose, de fructose, de lévulose et d'amidon.

PREPARATION DES DIFFERENTES SOLUTIONS DE GLUCOSE

-----

Poids moléculaire du glucose :



Tube	Quantité de glucose introduite	Eau	Concentration du milieu en glucose en molécule gramme/litre	Titre de la solution
Tube 1	1,80 gr.	1.000 cc	$\frac{1}{10^2}$	A
	Titre de la solution	Eau	Concentration du milieu en glucose	
Tube 2	1 cc. de A.	9 cc	$\frac{1}{10^3}$	B
Tube 3	2 cc. de A.	8 cc	$\frac{2}{10^3}$	C
Tube 4	4 cc. de A.	6 cc	$\frac{4}{10^3}$	D
Tube 5	6 cc. de A.	4 cc	$\frac{6}{10^3}$	E
Tube 6	8 cc. de A.	2 cc	$\frac{8}{10^3}$	F
Tube 7	1 cc. de A.	99 cc	$\frac{1}{10^4}$	G
Tube 8	2 cc. de A.	98 cc	$\frac{2}{10^4}$	H
Tube 9	4 cc. de A.	96 cc	$\frac{4}{10^4}$	I
Tube 10	6 cc. de A.	94 cc	$\frac{6}{10^4}$	J
	8 cc. de A.	92 cc	$\frac{8}{10^4}$	K

PREPARATION DES DIFFERENTES SOLUTIONS DE SACCHAROSE

-----

Poids moléculaire du saccharose :

$$C_{12}H_{22}O_{11} = [(6 \times 12) + 22 + (11 \times 16)] = 342$$

Tube	Quantité de saccharose introduite	Eau	Concentration du milieu en saccharose	Titre de la solution
Tube I	3,42 gr.	1.000 cc	$\frac{1}{10^2}$	A



	Titre de la solution	Eau	Concentration du milieu en saccharose en molécule/gramme/litre	
Tube 2	1 cc. de A.	9 cc	$\frac{1}{10^3}$	B
Tube 3	2 cc. de A.	8 cc	$\frac{2}{10^3}$	C
Tube 4	4 cc. de A.	6 cc	$\frac{4}{10^3}$	D
Tube 5	6 cc. de A.	4 cc	$\frac{6}{10^3}$	E
Tube 6	8 cc. de A.	2 cc	$\frac{8}{10^3}$	F
Tube 7	1 cc. de A.	99 cc	$\frac{1}{10^4}$	G
Tube 8	2 cc. de A.	98 cc	$\frac{2}{10^4}$	H
Tube 9	4 cc. de A.	96 cc	$\frac{4}{10^4}$	I
Tube 10	6 cc. de A.	94 cc	$\frac{6}{10^4}$	J
Tube 11	8 cc. de A.	92 cc	$\frac{8}{10^4}$	K

Le fructose a pour formule :  $C_6 H_{12} O_6$

C'est l'isomère D du glucose.

OBTENTION DES DIFFERENTES SOLUTIONS

Tube	Quantité de fructose introduite	Eau	Concentration du milieu en fructose en molécule gramme/litre	Titre de la solution
Tube I	1,80 gr.	1.000 cc	$\frac{1}{10^2}$	A
Tube 2	1cc de la solution A	9 cc	$\frac{1}{10^3}$	B
Tube 3	2cc de la solution A	8 cc	$\frac{2}{10^3}$	C
Tube 4	4cc de la solution A	6 cc	$\frac{4}{10^3}$	D
Tube 5	6cc de la solution A	4 cc	$\frac{6}{10^3}$	E
Tube 6	8 cc de la solution A	2 cc	$\frac{8}{10^3}$	F
Tube 7	1 cc de la solution A	99 cc	$\frac{1}{10^4}$	G
Tube 8	2cc de la solution A	98 cc	$\frac{2}{10^4}$	H
Tube 9	4cc de la solution A	96 cc	$\frac{4}{10^4}$	I
Tube 10	6cc de la solution A	94 cc	$\frac{6}{10^4}$	J
Tube 11	8cc de la solution A	92 cc	$\frac{8}{10^4}$	K

Le lévulose a pour formule :  $C_6 H_{12} O_6$

C'est l'isomère L du glucose.

OBTENTION DES DIFFERENTES SOLUTIONS



Tube	Quantité de lévulose introduite	Eau	Concentration du milieu en lévulose	Titre de la solution
Tube I'	1,80 gr.	1.000 cc	$\frac{1}{10^2}$ molécule gr./l.	A
Tube 2'	1cc de la solution A	9 cc	$\frac{1}{10^3}$ molécule gr./l.	B
Tube 3'	2cc de la solution A	8 cc	$\frac{2}{10^3}$ molécule gr./l.	C
Tube 4'	4cc de la solution A	6 cc	$\frac{4}{10^3}$ molécule gr./l.	D
Tube 5'	6cc de la solution A	4 cc	$\frac{6}{10^3}$ molécule gr./l.	E
Tube 6'	8cc de la solution A	2 cc	$\frac{8}{10^3}$ molécule gr./l.	F
Tube 7'	1cc de la solution A	99 cc	$\frac{1}{10^4}$ molécule gr./l.	G
Tube 8'	2cc de la solution A	98 cc	$\frac{2}{10^4}$ molécule gr./l.	H
Tube 9'	4cc de la solution A	96 cc	$\frac{4}{10^4}$ molécule gr./l.	I
Tube 10'	6cc de la solution A	94 cc	$\frac{6}{10^4}$ molécule gr./l.	J
Tube 11'	8cc de la solution A	92 cc	$\frac{8}{10^4}$ molécule gr./l.	K

PREPARATION DES DIFFERENTES SUSPENSIONS D'AMIDON

Tube	Quantité d'amidon introduite	Eau	Concentration du milieu en amidon	Titre de la suspension
I	I gr.	I.000 cc	$\frac{I}{10^3}$	A

Tube	Titre de la suspension	Eau	Concentration du milieu en amidon	Titre de la suspension
2	10cc.de la suspension A	99 cc	$\frac{I}{10^4}$	B
3	20cc.de la suspension A	98 cc	$\frac{2}{10^4}$	C
4	40cc.de la suspension A	96cc	$\frac{4}{10^4}$	D
5	60cc.de la suspension A	94 cc	$\frac{6}{10^4}$	E
6	80cc.de la suspension A	92 cc	$\frac{8}{10^4}$	F
7	2cc.de la suspension B	8 cc	$\frac{2}{10^5}$	G
8	4cc.de la suspension B	6 cc	$\frac{4}{10^5}$	H
9	6cc.de la suspension B	4 cc	$\frac{6}{10^5}$	I
10	8cc.de la suspension B	2 cc	$\frac{8}{10^5}$	J

C - LES COURBES DE DEVELOPPEMENT obtenues pour les différents glucides  
ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES.

Résultats des comptages effectués :



Tube	Concentration en glucose en molécule gr./l.	Prélèvement en surface N. bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N. bactéries p.unité THOMA	Moyenne
Tube I	$\frac{1}{10^4}$	1. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,2	0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0.	0,12
Tube 2	$\frac{2}{10^4}$	0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0.	0,1	0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0.	0,06
Tube 3	$\frac{4}{10^4}$		0		0
Tube 4	$\frac{6}{10^4}$	0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 1. 0.	0,15	0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0.	0,06
Tube 5	$\frac{8}{10^4}$	1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 1. 0. 0. 0.	0,2	0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0.	0,12
Tube 6	$\frac{1}{10^3}$	0. 1. 0. 0. 2. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 1. 1. 3. 0.	0,3	0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 2. 3. 0. 4.	0,15
Tube 7	$\frac{2}{10^3}$	5. 6. 2. 1. 3. 4. 0. 0. 2. 2. 4. 0. 1. 2. 3. 0.	2,1	2. 3. 2. 1. 2. 0. 2. 1. 2. 1. 1. 2. 1. 2. 0. 0.	1,75
Tube 8	$\frac{4}{10^3}$	1. 0. 2. 1. 0. 0. 1. 1. 2. 1. 0. 1.	1	1. 3. 0. 1. 1. 0. 1. 1. 0. 0. 1. 0.	0,75
Tube 9	$\frac{6}{10^3}$		0		0
Tube 10	$\frac{8}{10^3}$		0		0
Tube II	$\frac{1}{10^2}$		0		0

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES

Résultats des comptages effectués :

Tube	Concentration en saccharose en molécule gramme/litre	Prélèvement en surface N.bactéries p;unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p;unité THOMA	Moyenne
Tube I	$\frac{1}{10^4}$	0. 1. 1. 0.	1,3	11. 6. 5. 4.	4
		0. 1. 0. 0.		0. 4. 4. 2.	
		3. 2. 0. 2.		6. 0. 1. 4.	
Tube 2	$\frac{2}{10^4}$	2. 4. 3. 2.	6,5	6. 4. 5. 3.	20
		11. 9. 8. 6.		20. 22. 18. 19.	
		8. 4. 2. 4.		19. 21. 22. 20.	
Tube 3	$\frac{4}{10^4}$	8. 10. 5. 5.	3,1	20. 23. 18. 17.	3,9
		10. 5. 6. 4.		20. 26. 19. 16.	
		0. 2. 1. 5.		5. 3. 6. 4.	
Tube 4	$\frac{6}{10^4}$	2. 7. 2. 4.	0,7	6. 7. 5. 3.	1,4
		5. 3. 4. 3.		2. 5. 1. 4.	
		4. 2. 5. 1.		3. 1. 2. 6.	
Tube 5	$\frac{8}{10^4}$	1. 0. 2. 1.	0,4	2. 1. 1. 0.	0,7
		0. 0. 1. 2.		4. 2. 3. 1.	
		1. 0. 3. 0.		0. 1. 2. 2.	
Tube 6	$\frac{1}{10^3}$	0. 0. 1. 0.	0,4	3. 1. 0. 0.	0,56
		0. 3. 0. 0.		0. 1. 1. 2.	
		0. 1. 0. 1.		0. 1. 2. 0.	
Tube 7	$\frac{2}{10^3}$	0. 0. 1. 0.	0,2	1. 2. 0. 0.	0,50
		0. 1. 0. 0.		1. 1. 0. 1.	
		0. 0. 2. 0.		0. 1. 0. 0.	
Tube 8	$\frac{4}{10^3}$	0. 0. 0. 0.	0,2	2. 0. 0. 0.	0,5
		0. 0. 0. 0.		1. 1. 0. 1.	
		1. 0. 0. 0.		2. 0. 0. 0.	
Tube 9	$\frac{6}{10^3}$	0. 0. 1. 0.	0,3	0. 0. 1. 0.	0,43
		0. 2. 0. 0.		0. 1. 0. 0.	
		0. 1. 0. 0.		1. 0. 0. 0.	
Tube 10	$\frac{8}{10^3}$	0. 0. 1. 0.	1	0. 2. 0. 1.	0,5
		1. 2. 0. 1.		0. 0. 1. 0.	
		1. 3. 0. 1.		0. 0. 1. 0.	
Tube II	$\frac{1}{10^2}$	1. 0. 4. 1.	0,25	0. 1. 0. 2.	0,4
		0. 1. 0. 0.		0. 0. 3. 0.	
		0. 0. 0. 0.		1. 0. 1. 0.	
		0. 0. 0. 1.		0. 1. 0. 0.	

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES

Résultats des comptages effectués :

Tube	Concentration en fructose en molécule gramme/litre	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
Tube I	$\frac{1}{10^4}$		0		0
Tube 2	$\frac{2}{10^4}$	I. 0. 2. 0. 0. I. 0. I. 0. 0. I. 0.	0,5	I. 2. 0. 0. 0. I. 0. 0. 0. 0. I. I. 0. 0. 0. I.	0,4
Tube 3	$\frac{4}{10^4}$	5. 4. 2. I. 3. 0. 4. 4. I. 2. I. 4. I. 3. 4. 5. 3. 2. I. 0.	2,7	2. 3. 3. 0. 2. I. 0. 2. I. 3. 2. 5. 2. 0. 3. I. 2. I. 3. I.	I,8
Tube 4	$\frac{6}{10^4}$	I. 0. 4. 3. 4. 2. I. 3. 5. 0. I. 2.	2	0. 2. I. 0. 2. 3. 2. I. I. I. 0. I.	I,3
Tube 5	$\frac{8}{10^4}$	2. 3. I. 0. 2. 0. I. 3. 0. I. 2. 0. I. 2. I. I.	I,2	I. 0. 2. I. 0. 0. I. 0. I. 3. 0. 2. I. I. 2. 0.	0,9
Tube 6	$\frac{1}{10^3}$	3. 2. I. 0. 0. 0. 2. 0. I. 0. 3. 0. 2. 0. I. 0.	0,9	I. 2. 0. I. 0. 0. 2. 0. 0. I. I. 0. I. 2. I. 0.	0,7
Tube 7	$\frac{2}{10^3}$	I. 0. 2. 0. 3. 0. I. 0. 3. 0. I. 0. 0. I. 0. I.	0,8	I. 0. 0. 2. 0. 3. I. 0. 0. 0. I. 0. I. I. 0. 0.	0,6
Tube 8	$\frac{4}{10^3}$	I. 0. 3. 0. 2. 0. 0. 3. 0. I. 0. 2. 0. 0. 0. 0.	0,7	I. 0. I. 0. 0. I. 0. 2. I. 0. 0. I. 0. 0. I. 0.	0,5
Tube 9	$\frac{6}{10^3}$	I. 0. 0. 2. 0. 0. 3. 0. 0. I. 0. 0. 3. 0. 2. 0.	0,7		0
Tube IO	$\frac{8}{10^3}$		0		0
Tube II	$\frac{1}{10^2}$		0		0



ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES

Résultats des comptages effectués

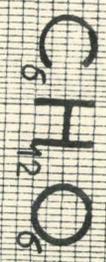
Tube	Concentration en lévulose en molécule gramme/litre	Prélevement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélevement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
Tube I	$\frac{1}{10^4}$	0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0.	0,1	0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,06
Tube 2	$\frac{2}{10^4}$	0. 1. 0. 1. 2. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,3	0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0.	0,1
Tube 3	$\frac{4}{10^4}$	1. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 2. 0. 0. 0. 0. 1.	0,3	1. 0. 0. 0. 2. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,15
Tube 4	$\frac{6}{10^4}$	0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 1. 0.	0,3	2. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 2. 0. 0.	0,4
Tube 5	$\frac{8}{10^4}$	1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1.	0,2	0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,1
Tube 6	$\frac{1}{10^3}$	0. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 2. 0. 0. 0. 0. 0.	0,2	0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0.	0,1
Tube 7	$\frac{2}{10^3}$	1. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 1.	0,3	1. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0.	0,15
Tube 8	$\frac{4}{10^3}$	1. 2. 3. 4. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0. 1. 1. 1. 0.	1	2. 0. 1. 0. 1. 1. 0. 1. 1. 1. 1. 2. 0. 0. 1. 0.	0,7
Tube 9	$\frac{6}{10^3}$	1. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 2. 0. 0. 0. 0. 0.	0,2		0
Tube 10	$\frac{8}{10^3}$		0		0
Tube II	$\frac{1}{10^2}$		0		0



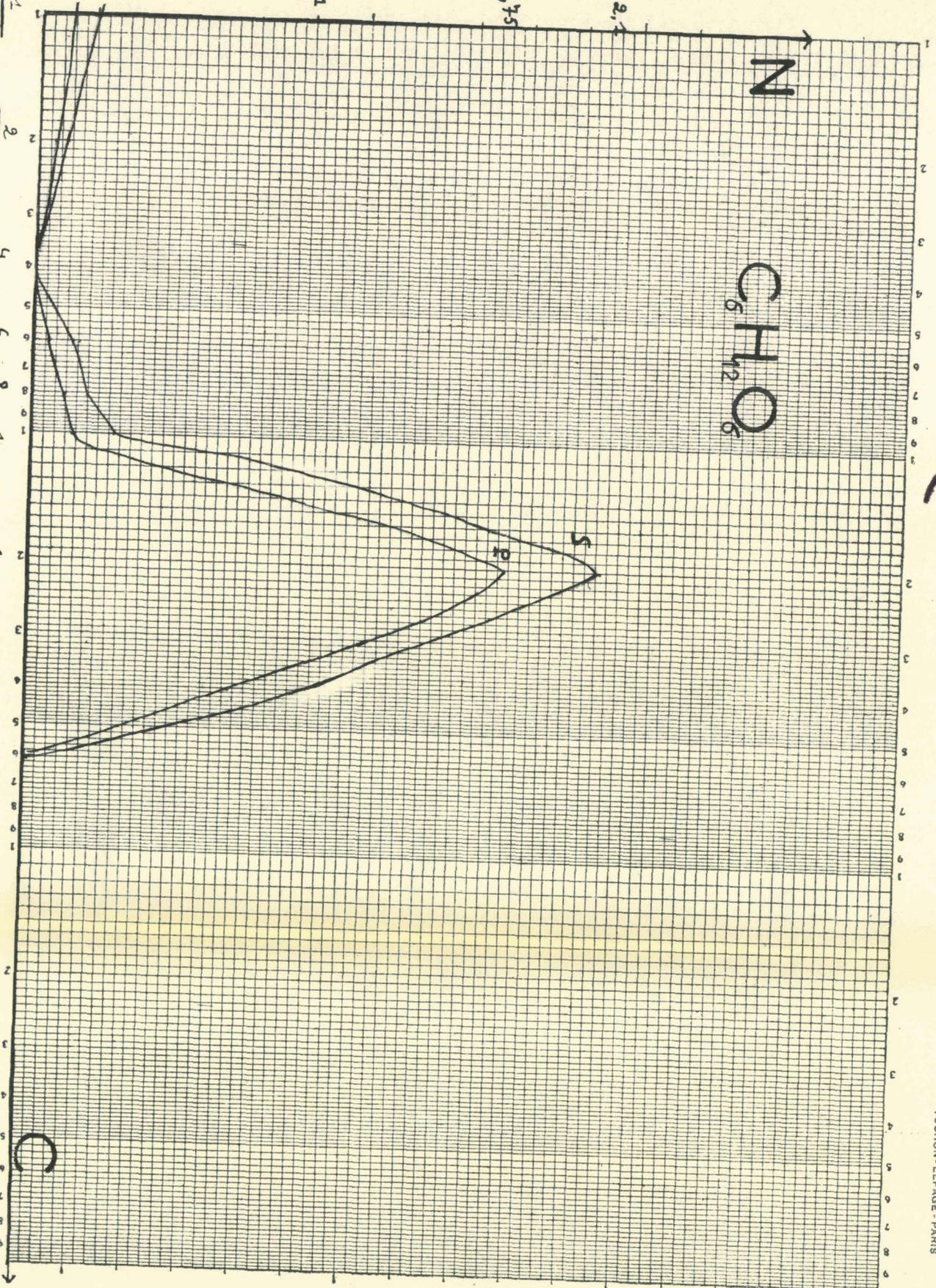
ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES

Résultats des comptages effectués

Tube	Concentration en amidon	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
Tube 1'	$\frac{2}{10^5}$	1. 0. 2. 0. 0. 1. 0. 1. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0.	0,5	4. 5. 2. 1. 3. 4. 3. 1. 2. 5. 6. 5. 1. 2. 4. 5.	3,3
Tube 2'	$\frac{4}{10^5}$	2. 3. 1. 0. 4. 1. 0. 2. 0. 1. 1. 0. 0. 0. 1. 0.	I	5. 6. 7. 4. 3. 2. 5. 7. 4. 2. 1. 4. 3. 2. 5. 4.	4
Tube 3'	$\frac{6}{10^5}$	0. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0. 4. 0. 2. 1. 2. 3. 1.	I	5. 3. 1. 6. 2. 3. 4. 4. 8. 5. 6. 1. 3. 6. 3. 4.	4
Tube 4'	$\frac{8}{10^5}$	1. 0. 2. 0. 3. 4. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0. 2. 0.	0,9	6. 5. 3. 4. 7. 5. 4. 6. 3. 2. 5. 4. 3. 2. 1. 2.	3,85
Tube 5'	$\frac{1}{10^4}$	1. 0. 1. 0. 2. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 1.	0,5	3. 4. 2. 3. 4. 5. 1. 3. 5. 5. 4. 3. 2. 3. 4. 4.	3,4
Tube 6'	$\frac{2}{10^4}$	1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 1.	0,2	6. 5. 3. 2. 4. 5. 2. 3. 2. 4. 5. 1. 6. 5. 7. 4.	4
Tube 7'	$\frac{4}{10^4}$	5. 4. 6. 7. 6. 8. 5. 4. 7. 7. 6. 2. 8. 7. 6. 8.	6	7. 8. 10. 12. 5. 6. 9. 11. 5. 6. 7. 9. 6. 3. 5. 3.	7
Tube 8'	$\frac{6}{10^4}$	1. 2. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 1.	0,4	2. 1. 3. 2. 1. 1. 0. 3. 3. 0. 2. 3. 1. 3. 2. 1.	1,75
Tube 9'	$\frac{8}{10^4}$	1. 0. 0. 0. 0. 2. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 1. 1. 0. 0.	0,4	1. 0. 2. 0. 2. 1. 1. 0. 1. 1. 0. 1. 0. 2. 1. 2.	0,9
Tube 10'	$\frac{1}{10^3}$	1. 0. 2. 0. 0. 1. 0. 1. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0.	0,5	1. 2. 3. 0. 2. 1. 3. 0. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 1. 0.	0,9



N



10<sup>-5</sup> 10<sup>-4</sup> 10<sup>-3</sup> 10<sup>-2</sup> 10<sup>-1</sup> 1

1 2 3 4 5 6 7 8 9

1 2 3 4 5 6 7 8 9

$CH_{12}O_{22}H_4$

N

20

P

6,5

5

1

C

1  
10.000

2  
10.000

4  
10.000

6  
10.000

8  
10.000

1  
1.000

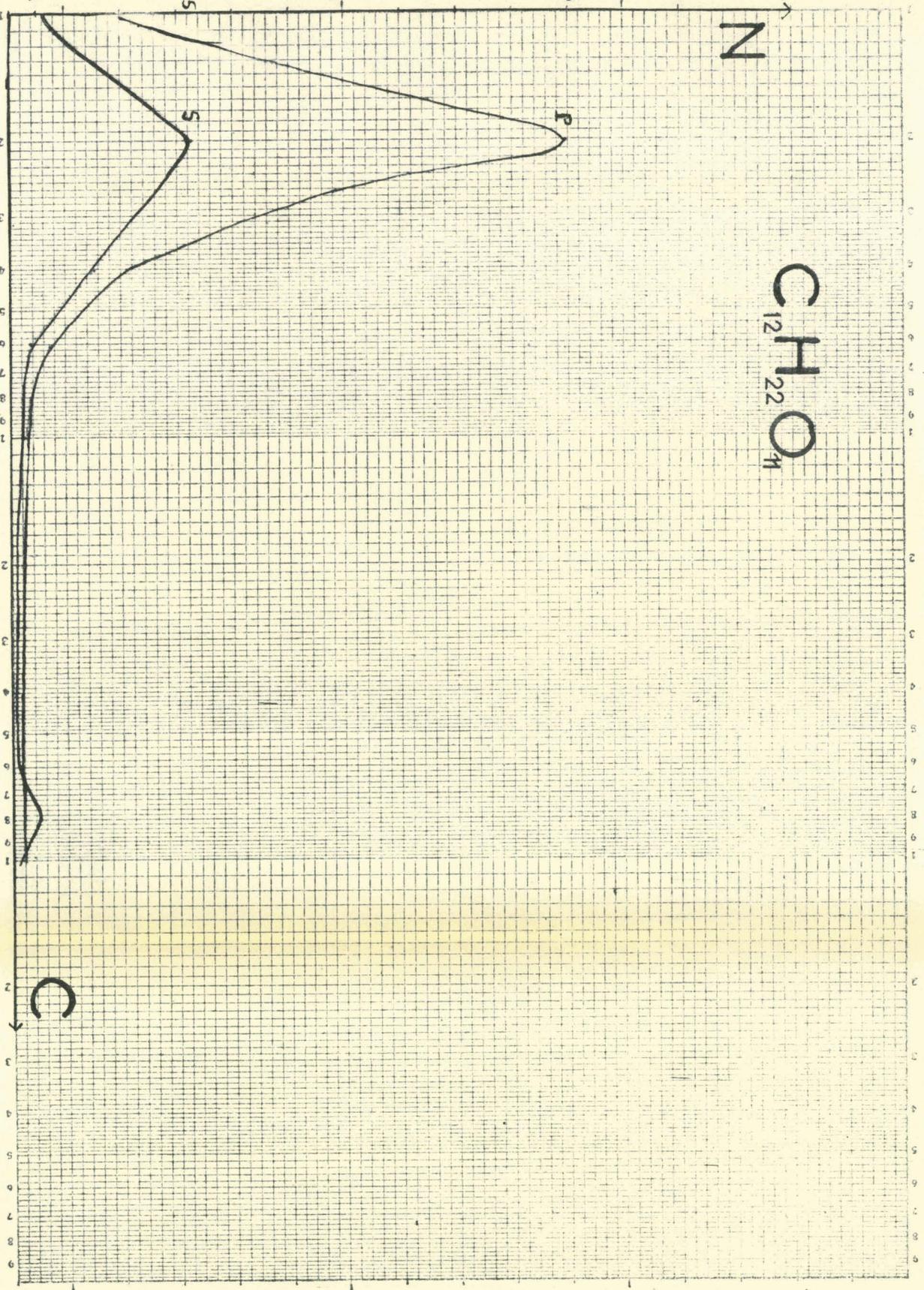
2  
1.000

4  
1.000

6  
1.000

8  
1.000

1  
1.00



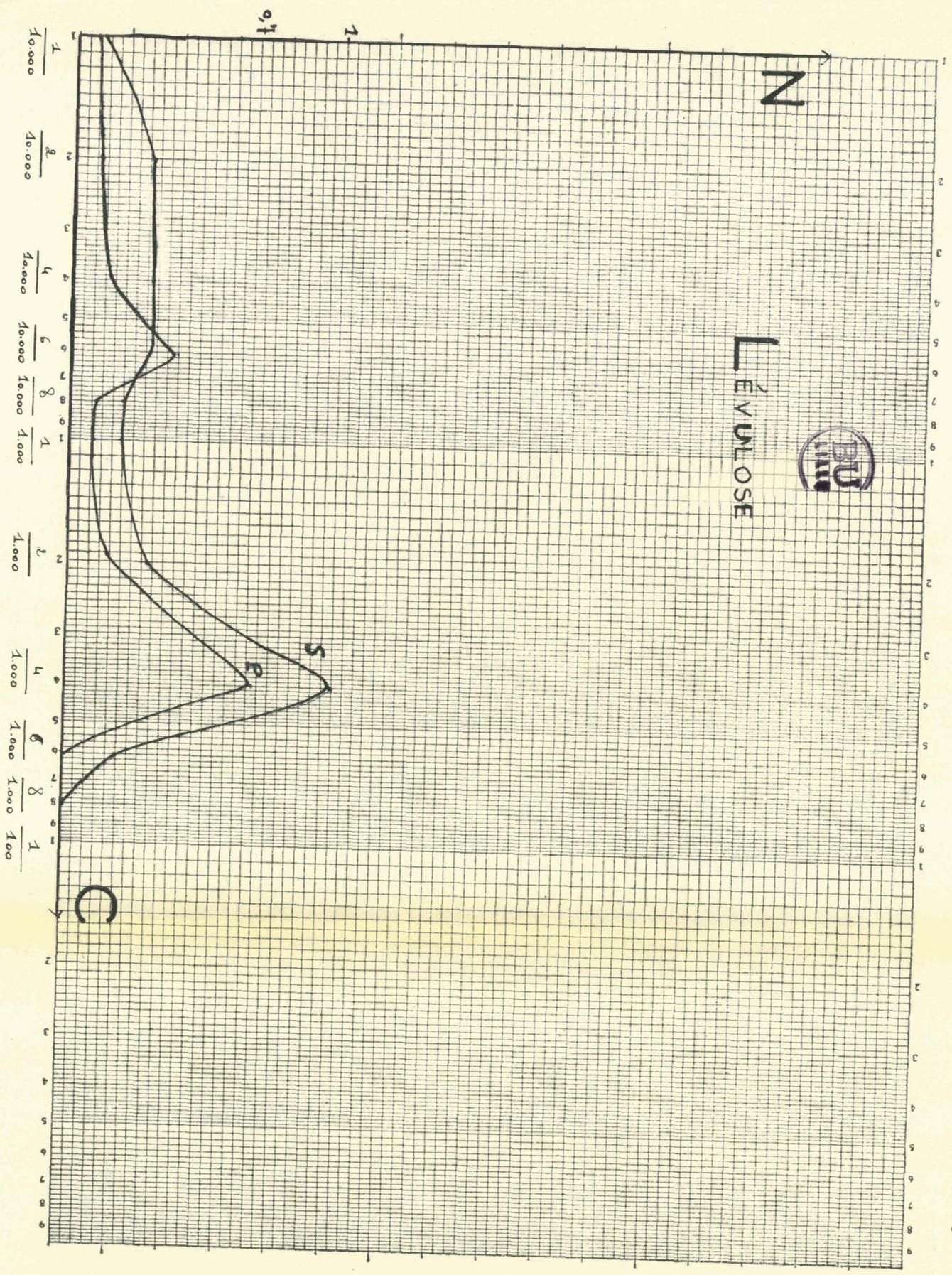


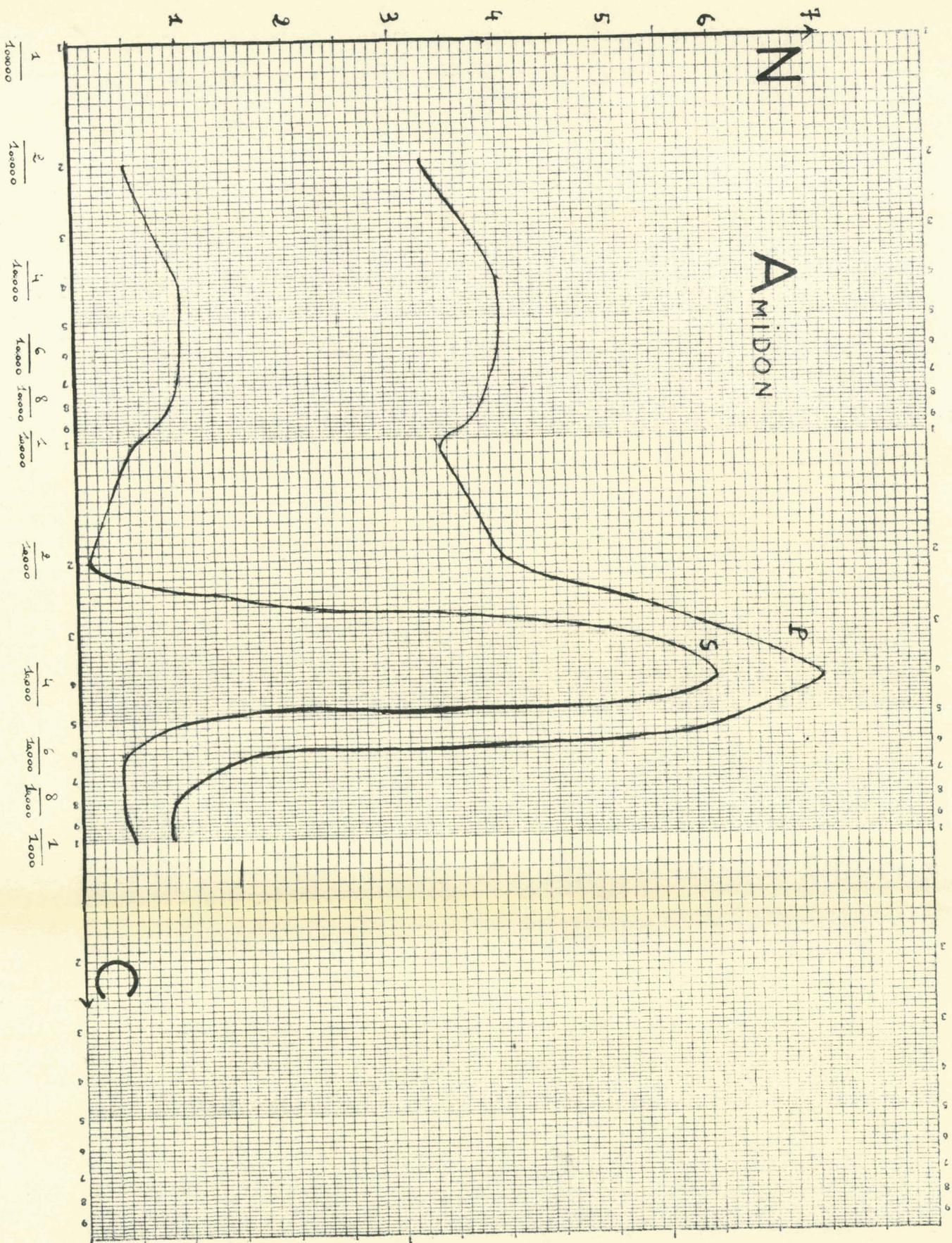


LÉVULOSE

N

C





D - RESULTATS :

L'étude des valeurs déterminées et l'examen des courbes tracées montre que les glucides exercent une action inhibitrice sur le développement du *Perabacterium*.

En effet, sur les milieuxensemencés au cours de ces séries d'essais, le nombre de bactéries par unite de THOMA reste compris entre 0 et 6,5, alors que le milieu témoin permet d'obtenir environ 30 bactéries par unité de THOMA.

Le développement optimum obtenu pour chacun des glucides est :

- 2,1 bactéries par unité en surface pour une concentration en glucose égale à 2/1.000 mol. gr./l.
- 6,5 bactéries par unité en surface pour une concentration en saccharose égale à 2/10.000 molécule gr./l.
- 2,7 bactéries par unité en surface pour une concentration en fructose égale à 4/10.000 molécule gr./l.
- 1 bactérie par unité en surface pour une concentration en lévulose égale à 4/1.000 molécule gr./l.
- 6 bactéries par unité en surface pour une concentration en amidon égale à 4/10.000 molécule gr./l.

Les développements s'étant révélés beaucoup plus importants lorsque l'apport de substances organiques s'effectuait sous forme de peptone et de bouillon de pommes de terre uniquement, il apparaît judicieux de ne faire figurer aucun glucide dans la composition d'un milieu

de culture devant répondre aux exigences du Pérabacterium  
et de considérer les glucides comme inhibiteurs.

ACTION DE L'HEMOGLOBINE SUR LE DEVELOPPEMENT DU  
PERABACTERIUM

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

L'apport des substances organiques dans le milieu s'établira, pour cette étude, comme suit :

- 0,3 gr. de peptone.
- 1 cc. de bouillon de pommes de terre.
- 2 cc. des solutions d'hémoglobine à des concentrations variables.

Les tubes sont constitués de la façon suivante :

- 3 cc. de solution de  $PO_4^H K_2$  à 1/1.000 gr/cc.
- 5 cc. de solution de  $SO_4^Mg$  à 1 molécule gr./l.
- 1 cc. de solution de  $SO_4^Na_2$  à 1 molécule gr./l.
- 1 cc. de solution de  $SO_4^Mn$  à 1 molécule gr./l.
- 15 cc. de solution de  $Cl_2^Fe$  à  $8 \cdot 10^{-3}$  gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $(SO_4)_3^Fe_2$  à 0,5/100.000 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $SO_4^K_2$  à 1 molécule gr./l.
- 0,3 gr. de peptone.
- 1 cc. de bouillon de pommes de terre.
- 2 cc. des solutions d'hémoglobine aux concentrations de :

$$\frac{1}{1.000.000} , \frac{1}{100.000} , \frac{1}{10^4} , \frac{1}{10^3} , \frac{2}{1.000} , \frac{4}{1.000}$$
$$\frac{6}{1.000} , \frac{8}{1.000} , \frac{1}{100} , \frac{1}{10} , 1$$

pour réaliser dans les différents tubes, des concentrations croissantes en ces substances comme l'indique le tableau suivant.

On effectuera l'apport de  $CO_3Ca$

PREPARATION DES DIFFERENTES SOLUTIONS D'HEMOGLOBINE

On dissout tout d'abord l'hémoglobine dans une solution de bicarbonate de potassium.

$$\text{Poids moléculaire } \text{CO}_3 \text{ H K} = 12 + (3 \times 16) + 1 + 39 = 100$$

A cet effet, on introduit 1 gramme de bicarbonate de potassium dans 1.000 cc. d'eau, on ajoute 1 gramme d'hémoglobine dans cette solution de  $\text{CO}_3 \text{ H K}$  à 1/100, et on obtient la solution A qui servira à toutes les dilutions.

Nous conviendrons que cette solution A d'hémoglobine ainsi préparée est à la concentration 1.

Tube	Quantité d'hémoglobine introduite	Eau	Concentration du milieu en hémoglobine	Titre de la solution
2	1 cc. de la solution A	9 cc	$\frac{1}{10}$	B
3	1 cc. de la solution A	99 cc	$\frac{1}{100}$	C
4	8 cc. de la solution B	92 cc	$\frac{8}{1.000}$	D
5	7 cc. de la solution B	93 cc	$\frac{7}{1.000}$	E
6	6 cc. de la solution B	94 cc	$\frac{6}{1.000}$	F
7	4 cc. de la solution B	96 cc	$\frac{4}{1.000}$	G
8	2 cc. de la solution B	98 cc	$\frac{2}{1.000}$	H
9	1 cc. de la solution B	99 cc	$\frac{1}{1.000}$	I
10	1 cc. de la solution B	999 cc	$\frac{1}{10.000}$	J
11	1 cc. de la solution C	999 cc	$\frac{1}{100.000}$	K
12	1 cc. de la solution I	999 cc	$\frac{1}{1.000.000}$	L





## RESULTATS

Les concentrations en hémoglobine s'échelonnaient dans ces milieux entre I/I.000.000 et I.

Les divers développements obtenus se situent entre les valeurs de :

- |                                    |   |                                      |
|------------------------------------|---|--------------------------------------|
| - 0,6 bactérie par unité de THOMA  | { | pour un prélèvement<br>de surface.   |
| - 5,3 bactéries par unité de THOMA |   |                                      |
| - 0,2 bactérie par unité de THOMA  | { | pour un prélèvement<br>en profondeur |
| - 4,3 bactéries par unité de THOMA |   |                                      |

La croissance de la culture est sensiblement identique quelle que soit la quantité d'hémoglobine introduite dans le milieu de culture.

Les écarts existant entre les différentes valeurs peuvent être imputés à la difficulté de dissolution de l'hémoglobine. La solution A n'est pas homogène malgré la présence du bicarbonate de potassium. Lorsqu'à l'aide de pipettes, nous faisons différents prélèvements dans la solution A pour effectuer les solutions, nous introduisons une erreur.

Il n'apparaît de toute façon utile à faire figurer ce composé organique du fer dans la composition d'un milieu de culture devant répondre aux exigences du Perabacterium.

ACTION DE LA PHYTINE SUR LE DEVELOPPEMENT DU  
PERABACTERIUM

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

L'apport des substances organiques dans le milieu s'établira comme suit :

- 0,3 gr. de peptone.
- 1 cc. de bouillon de pommes de terre.
- 2 cc. des solutions de phytine à des concentrations variables.

Les tubes sont constitués de la façon suivante :

- 3 cc. de solution de  $\text{PO}_4 \text{H K}_2$  à 1/1.000 gr./cc.
- 5 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{Mg}$  à 1 molécule gr./l.
- 1 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{Na}_2$  à 1 molécule gr./l.
- 1 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{Mn}$  à 1 molécule gr./l.
- 15 cc. de solution de  $\text{Cl}_2 \text{Fe}$  à  $8 \cdot 10^{-3}$  gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $(\text{SO}_4)_3 \text{Fe}_2$  à 0,5/100.000 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{K}_2$  à 1 molécule gr./l.
- 0,3 gr. de peptone.
- 1 cc. de bouillon de pommes de terre.

- 2 cc. des solutions de phytine aux concentrations de

$\frac{1}{10^4}$	$\frac{2}{10^4}$	$\frac{4}{10^4}$	$\frac{6}{10^4}$	$\frac{8}{10^4}$	$\frac{1}{10^3}$	$\frac{2}{10^3}$	$\frac{4}{10^3}$	$\frac{6}{10^3}$
$\frac{8}{10^3}$	$\frac{1}{10^2}$							

pour réaliser dans les différents tubes, des concentrations croissantes en ces substances comme l'indique le tableau suivant.

On effectuera l'apport de  $\text{CO}_3 \text{Ca}$ .

PREPARATION DES DIFFERENTES SOLUTIONS DE PHYTINE

Nous avons à notre disposition des cachets de phytine CIBA dosés à 0,5 gr.

Versons le contenu de 2 cachets de phytine, soit 1 gr. dans 100cc. d'eau, nous obtenons ainsi une solution de phytine au centième. A partir de cette solution au 1/100, nous préparons les dilutions.

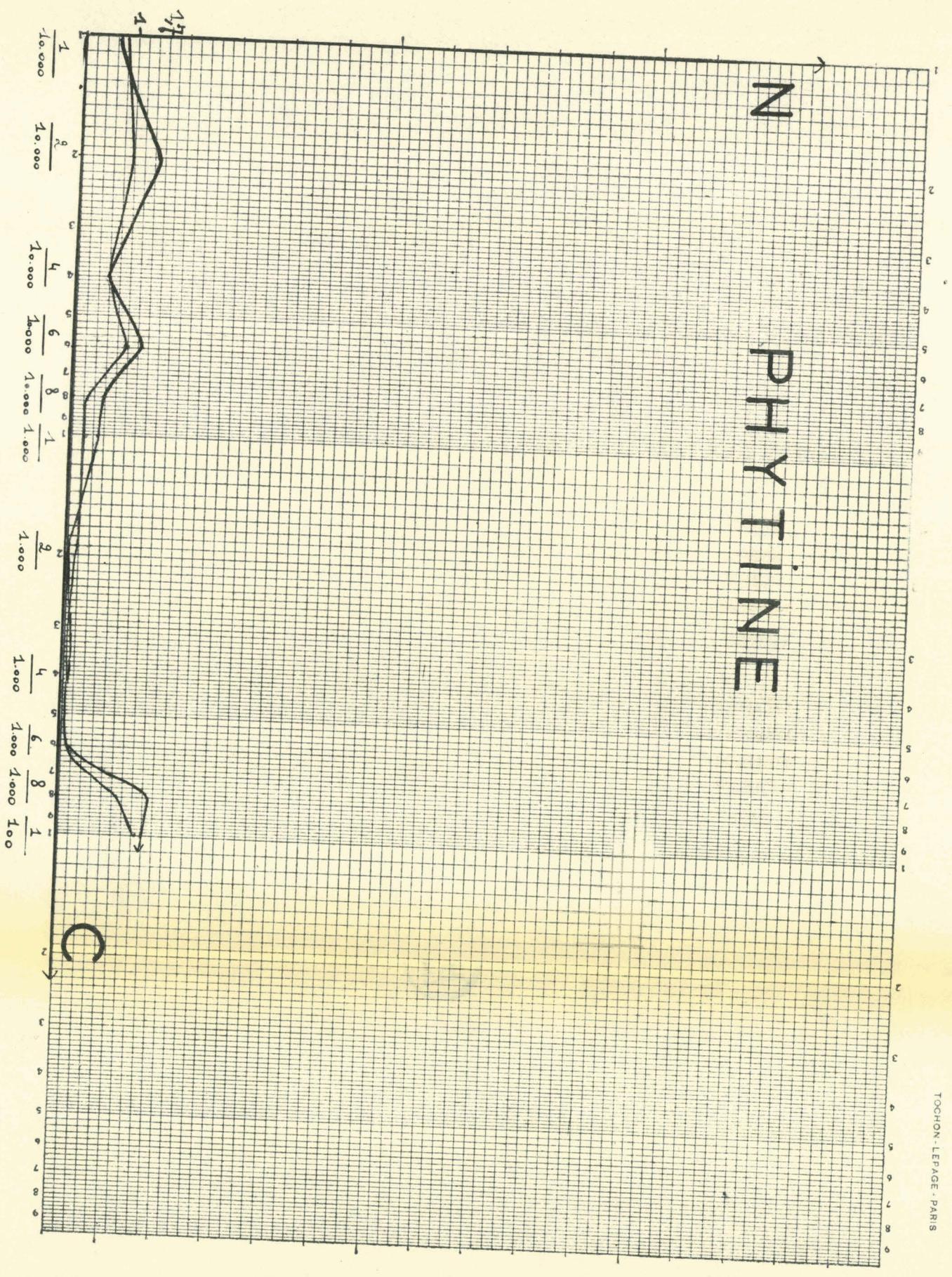
Tube	Quantité de phytine introduite	Eau	Concentration du milieu en phytine	Titre de la solution
I	1 gr.	100 cc.	$\frac{1}{100}$ gr/cc	A
2	8cc.de la solution A	2 cc.	$\frac{8}{1.000}$ gr/cc	B
3	6cc.de la solution A	4 cc.	$\frac{6}{1.000}$ gr/cc	C
4	4cc.de la solution A	6 cc.	$\frac{4}{1.000}$ gr/cc	D
5	2cc.de la solution A	8 cc.	$\frac{2}{1.000}$ gr/cc	E
6	1cc.de la solution A	9 cc.	$\frac{1}{1.000}$ gr/cc	F
7	8cc.de la solution F	2 cc.	$\frac{8}{10.000}$ gr/cc	G
8	6cc. de la solution F	4 cc.	$\frac{6}{10.000}$ gr/cc	H
9	4cc.de la solution F	6 cc.	$\frac{4}{10.000}$ gr/cc	I
10	2cc.de la solution F	8 cc.	$\frac{2}{10.000}$ gr/cc	J
11	1cc.de la solution F	9 cc.	$\frac{1}{10.000}$ gr/cc	K

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES.

Résultats des comptages effectués

Tube	Concentration en phytine	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
I	$\frac{1}{100}$	4. 3. 2. 1. 0. 3. 2. 1. 4. 3. 1. 0. 1. 0. 0. 1.	1,6	2. 1. 4. 0. 1. 0. 2. 4. 0. 1. 0. 5. 2. 1. 1. 0.	1,5
2	$\frac{8}{1.000}$	2. 3. 4. 1. 0. 0. 1. 0. 3. 1. 3. 4. 4. 1. 0. 1.	1,7	2. 1. 0. 0. 0. 1. 3. 4. 0. 0. 1. 1. 1. 3. 1. 0.	1,1
3	$\frac{6}{1.000}$	1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0.	0,17	0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,10
4	$\frac{4}{1.000}$	1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1.	0,12	0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,10
5	$\frac{2}{1.000}$		0	0. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,16
6	$\frac{1}{1.000}$	1. 0. 0. 2. 1. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 1.	0,5	2. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0.	0,25
7	$\frac{8}{10.000}$	0. 2. 0. 1. 1. 2. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 1. 1. 0.	0,6	0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 1.	0,25
8	$\frac{6}{10.000}$	3. 4. 1. 2. 0. 0. 1. 0. 2. 0. 1. 4. 0. 1. 1. 1.	1,3	1. 2. 4. 3. 0. 1. 0. 2. 0. 0. 1. 0. 0. 1. 1. 0.	1
9	$\frac{4}{10.000}$	1. 2. 0. 0. 1. 2. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 1. 0.	0,6	1. 2. 3. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 0. 1. 0.	0,6
10	$\frac{2}{10.000}$	2. 0. 4. 0. 0. 1. 3. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 2. 1. 1.	1	1. 2. 3. 4. 0. 1. 2. 1. 3. 1. 1. 2. 1. 2. 0. 0.	1,5
11	$\frac{1}{10.000}$	1. 2. 0. 3. 1. 0. 0. 1. 0. 1. 0. 1. 0. 1. 0. 2.	0,8	1. 1. 0. 2. 1. 3. 0. 1. 0. 0. 1. 1. 0. 0. 1. 0.	0,7

# N PHYTINE



RESULTATS

L'étude des valeurs déterminées et l'examen des courbes tracées montre que la phytine n'exerce qu'une très faible action sur le développement du Perabacterium.

En effet, sur les milieuxensemencés au cours de cette série d'essais, le nombre de bactéries par unité de THOMA reste toujours compris entre 0,1 et 1,3.

Il semble que la phytine n'exerce aucune action sur le milieu de culture du Perabacterium spelei. Son apport dans le milieu ne s'avère donc pas nécessaire.

Ceci s'explique par la présence du phytol apparenté aux glucides et d'acide phosphorique qui, nous l'avons vu, au cours d'expériences précédentes, freinent le développement du Perabacterium spelei.



valeur du volume du filtrat  
et valeur du poids de pommes de terre  
est égal à I.

A partir de ce filtrat, nous réaliserons, par dilutions, des concentrations inférieures à I.

OBTENTION DES DIVERSES CONCENTRATIONS

	Apport de bouillon de pommes de terre	Concentration en bouillon de pommes de terre
Tube 1	3 cc. de bouillon unitaire	I
Tube 2	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué à $\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
Tube 3	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué à $\frac{1}{5}$	$\frac{1}{5}$
Tube 4	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$
Tube 5	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$



ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES DANS CHACUN DES TUBES

Résultats des comptages effectués.

Tube	Concentration en bouillon de pommes de terre	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
Tube 1	I	9. 4. 4. 19. 4. 7. 8. 10. 9. 10. 11. 3. 10. 12. 6. 4.	8,1	6. 3. 12. 13. 5. 2. 10. 8. 7. 0. 9. 9. 13. 12. 6. 7.	7
Tube 2	1/2	6. 8. 4. 7. 5. 5. 1. 4. 8. 5. 3. 4. 7. 8. 2. 3.	5	5. 3. 6. 5. 5. 6. 1. 12. 0. 4. 0. 10. 4. 10. 7. 7.	5,5
Tube 3	$\frac{I}{5}$	6. 7. 6. 4. 2. 2. 2. 3. 6. 3. 0. 6. 8. 0. 4. 5.	4	3. 9. 12. 3. 3. 2. 0. 7. 9. 5. 6. 5. 4. 4. 2. 3.	4,8
Tube 4	$\frac{I}{10}$	5. 6. 6. 6. 3. 3. 5. 8. 6. 7. 5. 4. 3. 2. 8. 7.	5,2	10. 7. 5. 6. 8. 3. 5. 6. 4. 6. 5. 8. 9. 8. 7. 3.	6,2
Tube 5	$\frac{I}{100}$	6. 7. 6. 4. 9. 2. 3. 2. 6. 7. 9. 3. 2. 4. 4. 3.	4,8	12. 11. 6. 4. 1. 5. 8. 3. 1. 12. 3. 1. 2. 1. 3. 2.	6,2

## II - LE BOUILLON DE HARICOTS.

Dans cette deuxième expérience, les milieux seront complétés à 30 cc., par l'adjonction d'un bouillon de haricots plus ou moins riche en éléments dissous ou en fines particules en suspension.

Celui-ci sera considéré introduit à une concentration égale à l'unité, s'il s'agit de 3 cc. d'un filtrat obtenu en amenant à 200 cc. le bouillon de 200 grs. de haricots, ou si ce même rapport entre :

valeur du volume du filtrat

et valeur du poids de haricots.

est égal à I.

A partir de ce filtrat, nous réaliserons, par dilutions, des concentrations inférieures à I.

### OBTENTION DES DIVERSES CONCENTRATIONS

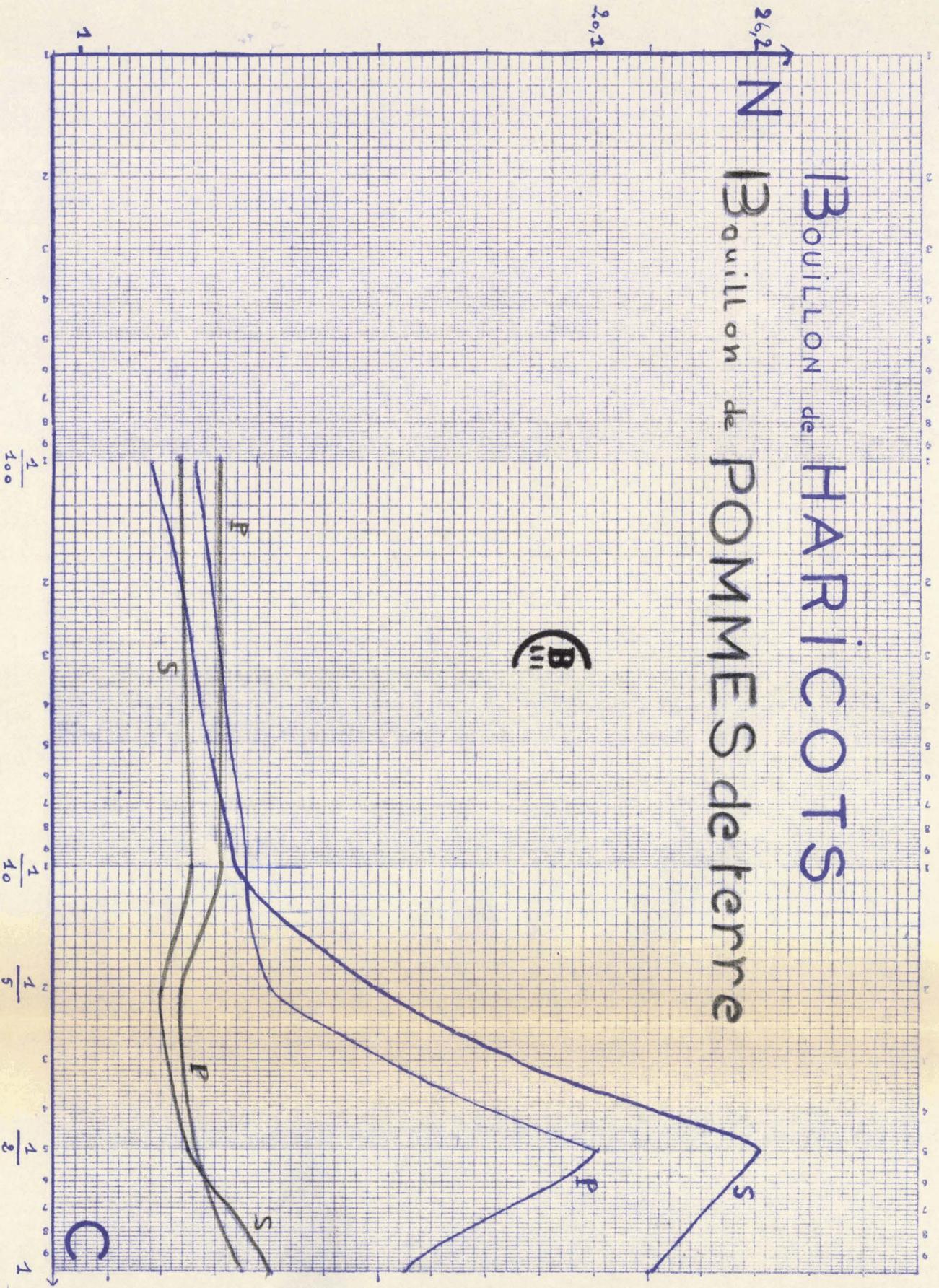


	Apport de bouillon de haricots	Concentration en bouillon de haricots
Tube 1	3 cc. de bouillon unitaire	I
Tube 2	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué à $\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
Tube 3	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{5}$	$\frac{1}{5}$
Tube 4	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$
Tube 5	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$



# BOUILLON de HARICOTS

## BOUILLON de POMMES de terre



RESULTATS

En comparant les courbes de développement du Perabacterium obtenues lorsque le milieu de culture renferme

- soit 3 cc. de bouillon de pommes de terre
- soit 3 cc. de bouillon de haricots,

on constate que l'apport de bouillons de pommes de terre, de plus en plus concentrés, améliore le développement du Perabacterium qui atteint la valeur de :

- 8,1 bactéries par unité de la cellule de THOMA  
pour un prélèvement de surface
- 7 bactéries pour un prélèvement de profondeur.

Nous constatons, d'autre part, que l'apport de bouillons de haricots, de plus en plus concentrés donne encore un meilleur développement du Perabacterium qui atteint la valeur de :

- 22 bactéries pour un prélèvement de surface
- 13 bactéries pour un prélèvement de profondeur.

Ces 2 séries d'expériences tendent à montrer la supériorité du bouillon de haricots sur le bouillon de pommes de terre.

Nous attribuons l'action favorable exercée par ces deux bouillons, aux substances oligodynamiques qu'ils sont susceptibles de renfermer et dont la nature reste à préciser. Il semble qu'à cet égard, le bouillon de haricots soit plus riche que le bouillon de pommes de terre.

L'allure générale de la courbe est bien celle qu'on obtiendrait avec un oligo-élément, à savoir :

- un palier pour les concentrations inférieures au seuil minimum
- à partir du seuil minimum, le développement croît beaucoup pour une faible augmentation de la concentration : c'est la partie ascendante de la courbe qui atteindra une valeur optimum
- à partir de cette valeur optimum, le développement décroît rapidement pour une faible augmentation de concentration : c'est la partie descendante de la courbe. Celle-ci se poursuit jusqu'à une certaine valeur de la concentration qui correspond au seuil de toxicité qui ne peut être défini.

Nous avons constaté que l'apport de bouillons de haricots, de plus en plus concentrés, améliore le développement du *Perabacterium*, aussi nous reprendrons l'expérience afin de rechercher l'influence à plus grande échelle de la concentration d'un bouillon de haricots, sur le développement de cette bactérie.

Dans chaque tube sont portés :

- 3 cc. de solution de  $\text{PO}_4 \text{H K}_2$  à 1/1.000 gr./cc.
- 5 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{Mg}$  à 1/100 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $\text{ClNa}$  à 1,5/1.000 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{Mn}$  à 1/10.000 gr./cc.
- 15 cc. de solution de  $\text{SO}_4 \text{Fe}$  à 1/10.
- 1 cc. de solution de  $(\text{SO}_4)_3 \text{Fe}_2$  à 0,5/10.000 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $\text{ClK}$  à 1/10 gr./cc.
- 0,3 gr. de peptone.

Nous effectuons l'apport de  $\text{CO}_3 \text{Ca}$ .

Les milieux seront complétés à 30 cc. par l'adjonction d'un bouillon de haricots préparé comme suit.

Le bouillon de haricots sera considéré introduit à une concentration égale à 2, s'il s'agit de 3 cc. d'un filtrat de 100 cc. obtenu à partir d'un bouillon constitué à l'origine de 200 grammes de haricots auxquels on avait ajouté 200 cc. d'eau.

A partir de ce filtrat, nous réaliserons, par dilutions, des concentrations inférieures à 2.

Le filtrat de 100 cc. obtenu précédemment sera appelé solution A.

OBTENTION DES DIVERSES CONCENTRATIONS :

Tube	Titre de la solution utilisée	Eau	Concentration en bouillon de haricots	Titre de la solution
3'	10 cc. de la solution A	10 cc	I	B
4'	I cc. de la solution B	0,5 cc	$\frac{I}{1,5}$	C
5'	I cc. de la solution B	I cc	$\frac{1}{2}$	D
6'	I cc. de la solution B	2 cc	$\frac{I}{3}$	E
7'	I cc. de la solution B	4 cc	$\frac{I}{5}$	F
8'	I cc. de la solution B	9 cc	$\frac{I}{10}$	G
9'	I cc. de la solution G	9 cc	$\frac{I}{100}$	H
10'	I cc. de la solution G	99 cc	$\frac{I}{1.000}$	I
II'	I cc. de la solution G	999 cc	$\frac{I}{10.000}$	J
2'	10 cc. de la solution A	3 cc	I,5	K



Le tube témoin a la même composition du point de vue minéral que les autres tubes de la série.

Nous ajouterons 0,3 gr. de peptone et le milieu sera complété à 30 cc. par l'adjonction de 3 cc. de bouillon de pommes de terre à la concentration I.

Le tube-témoin a la même composition du point de vue minéral que les autres tubes de la série.

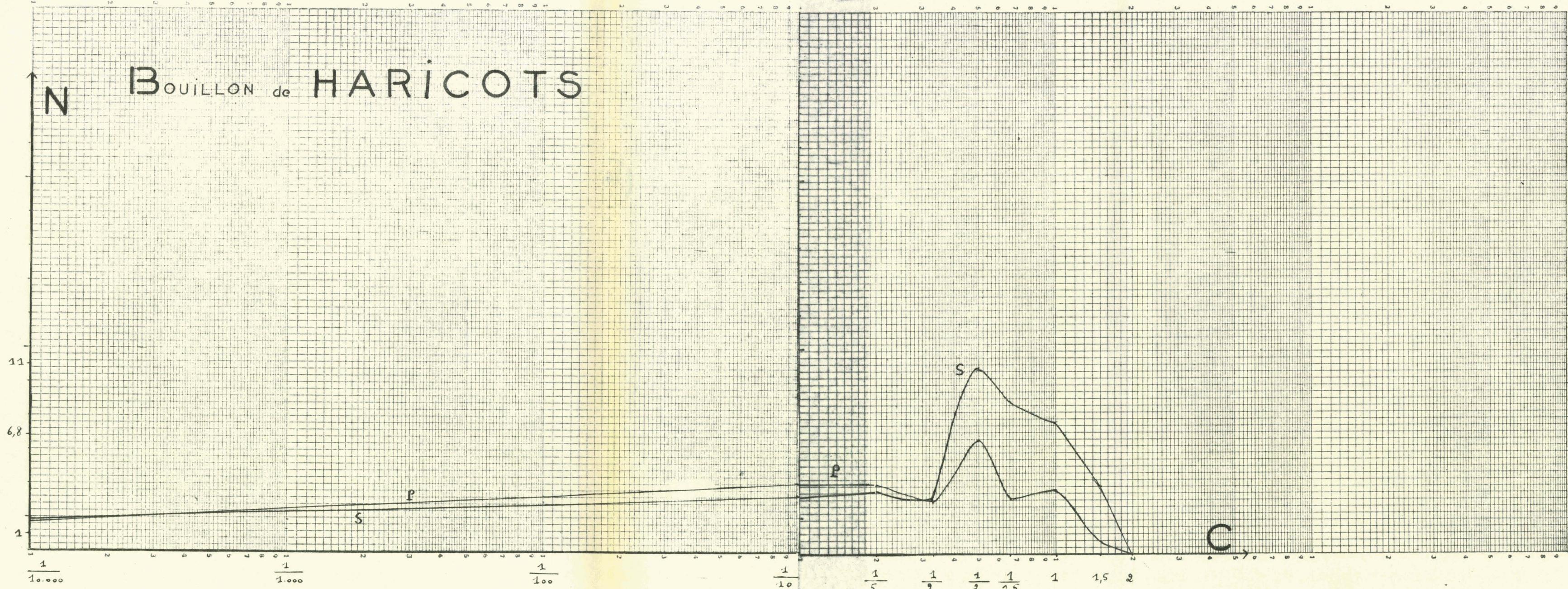
Nous ajouterons 0,3 gr. de peptone et le milieu sera complété à 30cc. par l'adjonction de 3cc. de bouillon de pommes de terre à la concentration I

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES : Résultats des comptages effectués/

Tubes	Concentration en bouillon de haricots	Prélevement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélevement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
I	2		0		0
2	I,5	4. 4. 2. 0. 0. I. 6. 8. 8. 0. 8. 7. I. 4. 0. 5. 3. 5. I. 0.	4	0. 0. 0. 0. 0. I. 0. 2. 0. 0. 0. 2. 0. 0. I. I. 0. 0. 2. 0.	0,7
3	I	6. 8. 8. I4. 6. 3. 5. I3. 8. 9. 6. 5. 0. I0. II. 7. 8. 0.	7,9	9. 0. 0. 0. 0. 2. I. 5. 0. 0. I0. 9. 8. 0. 0. I. 2. 4. 0. 0.	3,7
4	I I,5	9. I0. I2. II. 0. 9. I5. 8. II. 0. 4. I5. 8. 7. 0. 7. 6. 4. I0. 0.	9	4. 2. 0. 0. 0. 6. 8. 5. 0. 0. 9. 0. 5. 0. 4. 2. I. 3. 2. 0.	3,2
5	½	I5. I5. 7. I0. 0. I4. II. 6. I2. 0. I4. I3. I6. I0. 0. 6. 5. I0. I2. 0.	II	9. 5. 7. 9. 0. 7. 5. 4. 5. 0. 8. 8. 6. 6. 0. 7. I0. 6. 8. 0.	6,8
6	I 3	2. 3. 3. 8. 0. 2. 4. 2. 2. 0. 7. 6. 2. I. 0. 2. 2. 2. 3. 0.	3,2	0. 2. 0. 0. 0. 2. 3. 4. 9. 0. 8. 4. 3. I. 0. 2. 3. 3. I. 0.	3,I
7	I 5	I. 2. 4. 8. 0. 8. I. 2. 4. 0. 7. 9. 0. 5. 0. 4. 2. I. 2. 0.	3,7	5. 9. 5. 0. 0. 3. 0. 2. 4. 0. 9. 5. 6. 9. 0. 7. 4. 2. I. 0.	4,I
8	I I0	6. 3. 3. 2. 0. 3. 4. 2. I. 0. 6. 4. 3. 2. 0. 5. 4. 4. 3. 0.	3,2	3. 6. 4. 6. 0. I0. 8. 5. 4. 0. I. 2. 3. 4. 0. 6. 2. 4. 5. 0.	4
9	I I00	3. 2. 4. 6. 0. 2. 3. 3. I. 0. 6. 3. 3. 3. 0. I. 2. 3. 5. 0.	2,9	5. 2. 7. 2. 0. 2. 7. 3. 0. 0. 7. 5. 3. 0. 0. 2. 5. 4. 0. 0.	3,3
IO	I I.000	3. 2. 2. 3. 0. 2. 2. 3. I. 0. I. 2. 3. 0. 0. 3. 2. 3. 0. 0.	I,9	5. 0. 0. 0. 0. 3. 0. 5. 0. 0. 3. I. 0. 0. 0. 3. 0. 3. 0. 0.	I,3
II	I I0.000	I. 0. 4. 2. 0. I. 2. 2. 2. 0. 4. 2. I. 2. 0. 2. 2. 3. 3. 0.	2	3. 4. 2. I. 0. 3. 0. 5. 2. 0. 4. 2. 2. I. 0. 0. 4. 0. 2. 0.	I,9
Tube Témoin		2. 2. 3. 3. 0. 5. 5. 6. 4. 0. 8. 5. 8. 4. 0.	4		



# N BOUILLON de HARICOTS



## RESULTATS

Conformément à l'expérience précédente, nous constatons que l'apport de bouillons de haricots, de plus en plus concentrés, facilite le développement du *Perabacterium* qui atteint la valeur de :

- 11 bactéries par unité pour un prélèvement de surface
- 6,8 bactéries par unité pour un prélèvement de profondeur lorsque la concentration est égale à  $\frac{1}{2}$ .

Mais l'apport ne doit pas excéder cette valeur ainsi qu'en témoignent les tubes 1, 2, 3, et 4 où le bouillon de haricots, présent aux concentrations respectives égales à 2, 1,5, 1 et 1/1,5, provoque une diminution <sup>J</sup><sub>E</sub> importante du nombre de bactéries établies dans le milieu, ce qui complète la remarque précédente concernant l'action de substances oligodynamiques entrant dans la composition du bouillon de haricots. La diminution du nombre d'organismes observée pour les tubes 1, 2, 3, et 4 expliquerait donc le rôle inhibiteur que pourraient jouer les substances lorsqu'elles sont apparues en trop grandes quantités, lorsque nous franchissons le seuil de toxicité.

Le bouillon de haricots est plus favorable au développement du *Perabacterium* que le bouillon de pommes de terre. En effet, nous n'obtenons avec ce dernier que 4 bactéries par unité de la cellule de THOMA pour un prélèvement de surface dans le tube témoin où le bouillon de pommes de terre avait été introduit à une concentration égale à 1.



I,  $\frac{2}{3}$ ,  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{2}{30}$ ,  $\frac{1}{30}$ ,  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{2}{300}$ ,  $\frac{1}{300}$ ,  $\frac{1}{1000}$ ,  $\frac{2}{3000}$ ,  $\frac{1}{3000}$

On effectuera ensuite l'apport de  $\text{CO}_3 \text{ Ca}$ .

#### PREPARATION DU BOUILLON DE BLE EN GERMINATION

On fait germer des grains de blé. Au bout de 6 à 8 jours, les grains de blé germés sont pesés, pilés dans un mortier en présence d'un peu de sable de FONTAINEBLEAU, puis portés à douce ébullition pendant 10 minutes environ. Le bouillon est filtré à chaud et assez vite, de façon à éviter les oxydations qui se produisent rapidement au contact de l'air.

Pour obtenir la constance de concentration de ce bouillon, le même rapport entre poids de grains de blé germés et volume définitif du filtrat devra être maintenu ; nous avons porté 200 grammes de grains de blé germés à l'ébullition et le filtrat a été amené à 200 cc. Le bouillon ainsi obtenu était à la concentration I.

OBTENTION DES DIVERSES CONCENTRATIONS

Tube	Apport de bouillon de blé en germination	Eau	Concentration en bouillon de blé en germination
Tube 2'	2cc.d'un bouillon unitaire	1 cc.	$\frac{2}{3}$
Tube 3'	1cc.d'un bouillon unitaire	2 cc.	$\frac{1}{3}$
Tube 4'	3cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{10}$	0cc.	$\frac{1}{10}$
Tube 5'	2cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{10}$	1cc.	$\frac{2}{30}$
Tube 6'	1cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{10}$	2cc.	$\frac{1}{30}$
Tube 7'	3cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{100}$	0cc.	$\frac{1}{100}$
Tube 8'	2cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{100}$	1cc.	$\frac{2}{300}$
Tube 9'	1cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{100}$	2cc.	$\frac{1}{300}$
Tube 10'	3cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{1000}$	0cc.	$\frac{1}{1000}$
Tube 11'	2cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{1000}$	1cc.	$\frac{2}{3000}$
Tube 12'	1cc.d'un bouillon unitaire dilué au $\frac{1}{1000}$	2cc.	$\frac{1}{3000}$

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES

Résultats des comptages effectués

Tube	Concentration en bouillon de blé germé	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
I	I	15.27.14.23. 14.13. 6.26. 16.26.13.24. 13.14. 7.25.	17,2	19.16.18.20 15.23.19.21. 22.19.23.20. 18.24.19.24.	20
2	$\frac{2}{3}$	14.13.12.15. 9.10.10. 6. 10.12.14.15. 9.10.12. 7.	11,1	9. 8.11.13. 10.10. 9. 8. 10. 7.12.12. 11. 9.10. 7.	9,7
3	$\frac{I}{3}$	5. 5. 5. 5. 6. 4. 3. 3. 5. 4. 3. 3. 5. 3. 2. 1.	4,5	10. 7. 8. 0. 10. 7. 9. 7. 10. 6. 8. 0. 10. 8. 6. 6.	7
4	$\frac{I}{10}$	1. 6. 8. 8. 2. 4. 8. 5. 6. 4. 8. 5. 2. 4. 7. 6.	5,2	3.10. 8. 8. 6. 8.10. 0. 2.12. 7. 9. 5. 9. 9. 1.	6,7
5	$\frac{2}{30}$	5. 2. 1.11. 8. 4. 4. 8. 1. 6. 8. 2. 8. 8. 4. 5.	5,3	7. 5. 7. 8. 10. 4. 3. 7. 5. 8. 6. 8. 9.10. 5. 3.	6,5
6	$\frac{I}{30}$	11. 3. 0. 1. 4. 7.10.10. 7. 3. 6. 6. 6. 6. 9. 6.	5,9	7. 5. 7.10. 13. 4. 3. 7. 5. 8. 6. 8. 9.12. 5. 3.	6,7
7	$\frac{I}{100}$	6. 5. 8. 3. 3. 7. 0. 0. 6. 4. 7. 3. 7. 2. 1. 2.	4	2. 4. 5.11. 8. 4.11. 5. 1. 3. 7.12. 8. 7. 6. 4.	6,1
8	$\frac{2}{300}$	4. 4. 3. 3. 3. 0. 2. 1. 3. 4. 2. 1. 5. 3. 2. 0.	2,5	5. 5. 6. 5. 0. 2. 8. 0. 5. 4. 8. 3. 3. 7. 2. 1.	4
9	$\frac{I}{300}$	6. 1. 2. 0. 0. 2. 2. 0. 7. 0. 1. 0. 0. 3. 2. 0.	1,6	0. 8. 5. 0. 4. 6. 4. 0. 6. 5. 0. 0. 0. 6. 4. 4.	3,3
10	$\frac{I}{1000}$	3. 5. 4. 4. 4. 0. 1. 0. 2. 6. 3. 5. 3. 0. 2. 0.	2,6	8. 8. 3. 0. 2. 4. 7. 8. 7. 9. 2. 1. 1. 5. 6. 3.	4,2
11	$\frac{2}{3000}$	1. 0. 0. 5. 6. 0. 0. 0. 4. 1. 2. 0. 0. 3. 1. 1.	1,5	4. 4. 5. 2. 2. 4. 3. 0. 3. 5. 4. 3. 1. 5. 2. 1.	3
12	$\frac{I}{3000}$	1. 1. 0. 1. 0. 2. 0. 0. 1. 2. 0. 0. 1. 0. 0. 1.	0,6	2. 1. 3. 2. 2. 1. 3. 0. 0. 2. 2. 3. 1. 2. 1. 1.	1,6





A partir de ce filtrat, nous réaliserons, par dilutions, les différentes concentrations, pour réaliser dans les différents tubes des concentrations croissantes en cette substance, comme l'indique le tableau suivant :

Tube	Apport d'extrait de levure de bière	Eau	Concentration en levure de bière
Tube 1'	3 cc. d'un bouillon unitaire		I
Tube 2'	2 cc. d'un bouillon unitaire	1 cc.	$\frac{2}{3}$
Tube 3'	1 cc. d'un bouillon unitaire	2 cc.	$\frac{1}{3}$
Tube 4'	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/10		$\frac{1}{10}$
Tube 5'	2 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/10	1 cc.	$\frac{2}{30}$
Tube 6'	1 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/10	2 cc.	$\frac{1}{30}$
Tube 7'	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/100		$\frac{1}{100}$
Tube 8'	2 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/100	1 cc.	$\frac{2}{300}$
Tube 9'	1 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/100	2 cc.	$\frac{1}{300}$
Tube 10'	3 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/1.000		$\frac{1}{1000}$
Tube 11'	2 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/1.000	1 cc.	$\frac{2}{3000}$
Tube 12'	1 cc. d'un bouillon unitaire dilué au I/1.000	2 cc.	$\frac{1}{3000}$



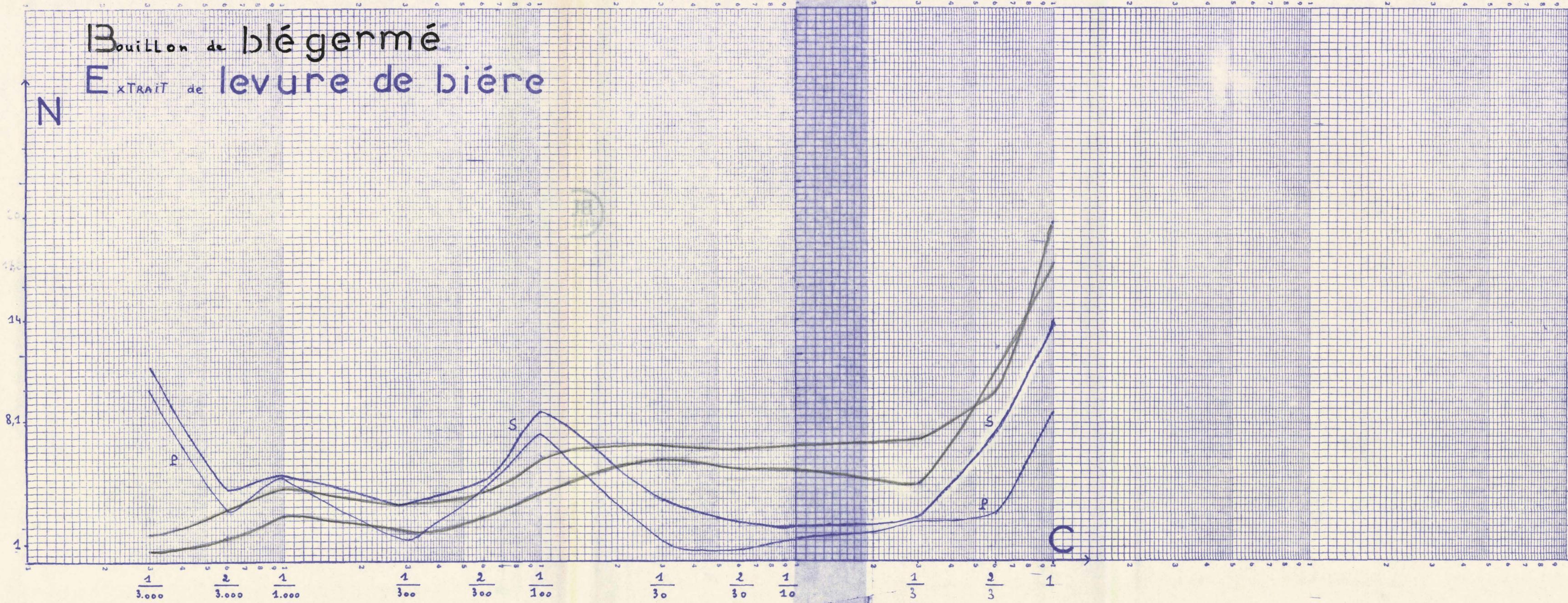
ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES

Résultats des comptages effectués :

Tube	Concentration en levure de bière	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
I	I	13.16. 9.13. 25. 5.15.15. 22. 6. 7.13. 19.16. 9.21.	14	6. 7. 9. 3. 12.13. 9. 6. 13.10. 7. 8. 9.10. 5. 3.	8,1
2	$\frac{2}{3}$	8. 9. 7. 6. 9. 8.10. 5. 6. 7. 6. 8. 10. 8. 6. 7.	4,5	0. 0. 2. 2. 7. 9. 0. 2. 9. 8. 3. 0. 3. 1. 1. 0.	2,7
3	$\frac{1}{3}$	6. 0. 1. 0. 2. 3. 0. 0. 5. 4. 0. 1. 0. 1. 0. 1.	1,5	4. 3. 3. 0. 0. 2. 6. 1. 4. 2. 3. 0. 3. 1. 4. 1.	2,3
4	$\frac{1}{10}$	0. 0. 2. 0. 2. 3. 0. 1. 1. 2. 0. 2. 1. 0. 1. 1.	I	0. 0. 0. 0. 0. 0. 11. 0. 0. 3. 0. 2. 0. 2. 1. 2.	1,3
5	$\frac{2}{30}$	2. 2. 0. 0. 4. 0. 0. 1. 3. 1. 0. 0. 2. 1. 0. 2.	1,1	1. 0. 0. 2. 1. 0. 1. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 1. 2.	0,6
6	$\frac{1}{30}$	0. 2. 5. 5. 4. 2. 6. 4. 3. 5. 6. 4. 2. 1. 3. 4.	3,5	3. 2. 0. 1. 2. 1. 0. 0. 1. 0. 2. 1. 0. 1. 2. 2.	1,1
7	$\frac{1}{100}$	3. 8. 6. 11 8. 4. 5. 9. 7.12. 7. 8. 4.13.12.19.	8,7	3. 3. 5. 9. 8.13. 9. 9. 12. 3. 4. 4. 8. 9.12. 6.	7,3
8	$\frac{2}{300}$	2. 5. 3. 8. 3. 0. 8. 8. 6. 1. 4. 7. 2. 1. 7. 9.	4,6	4. 8. 0. 3. 7. 3. 4. 3. 9.10. 7. 2. 11 1. 2. 0.	4
9	$\frac{1}{300}$	3. 0. 0. 0. 1. 1. 1. 0. 2. 0. 2. 0. 0. 1. 0. 1.	0,75	5. 1. 2. 0. 0. 3. 0. 2. 1. 2. 0. 3. 0. 1. 1. 0.	1,3
10	$\frac{1}{1000}$	5. 4. 6. 2. 6. 4. 3.10. 10. 6. 4. 2. 3. 9. 3. 5.	5	4. 8. 7. 3. 5. 6. 3. 3. 8. 9. 6. 5. 5. 3. 2. 2.	4,9
II	$\frac{2}{3000}$	15. 0. 3. 6. 4. 0. 0. 6. 13. 0. 3. 5. 6. 4. 2. 1.	4,2	4. 4. 2. 1. 4. 0. 4. 4. 4. 3. 2. 1. 0. 4. 5. 5.	2,9
I 2	$\frac{1}{3000}$	8. 7. 7.10. 21.15.14. 7. 8. 9.20.14. 13. 9. 8.10.	11,2	8.10.12.10. 12.13. 7. 8. 12.15. 7. 8. 13.12. 6. 7.	10

Bouillon de blé germé  
EXTRAIT de levure de bière

N



## RESULTATS

L'examen des courbes tracées montre que :  
l'apport de bouillons de blé en germination, de plus en plus concentrés, améliore le développement du Perabacterium qui atteint la valeur de :

- 17,2 bactéries par unité pour un prélèvement de surface
- 20 bactéries par unité pour un prélèvement en profondeur de même que l'apport d'extraits de levure de bière de plus en plus concentrés. Le développement du Perabacterium atteint dans ce cas, la valeur de :

- 14 bactéries par unité pour un prélèvement de surface
- 8,1 bactéries par unité pour un prélèvement en profondeur

Le bouillon de blé en germination et l'extrait de levure de bière contiennent vraisemblablement des substances oligodynamiques minérales ou organiques favorables au développement de la bactérie.

Les substances oligodynamiques d'origine organique seraient détruites par stérilisation. Il serait donc intéressant de connaître l'influence de l'extrait de blé germé ou de l'extrait de levure de bière sur le développement du Perabacterium à condition que ceux-ci ne subissent pas de températures supérieures ou égales à 60°.

Cette recherche fera l'objet de la prochaine série d'expériences.

Notons toutefois que les variations des courbes seraient dues au fait que bouillon de blé germé ou extrait de levure de bière ne sont pas homogènes.

ACTION DE L'EXTRAIT DE BLE GERME OBTENU SANS EBULLITION  
SUR LE DEVELOPPEMENT DU PERABACTERIUM

-----

La composition des tubes de culture s'établit de la façon suivante :

- 3 cc. de solution de  $PO_4 H K_2$  à 1/1.000 gr./cc.
  - 5 cc. de solution de  $SO_4 Mg$  à 1/100 gr./cc.
  - 1 cc. de solution de Cl Na à 1,5/1000 gr./cc.
  - 1 cc. de solution de  $SO_4 Mn$  à 1/10.000 gr./cc.
  - 15 cc. de solution de  $SO_4 Fe$  à 1/10.
  - 1 cc. de solution de  $(SO_4)_3 Fe_2$  à 0,5/10.000 gr./cc.
  - 1 cc. de solution de Cl K à 1/10 gr./cc.
  - 0,3 gr. de peptone.
  - 3 cc. d'extrait de blé germé aux concentrations suivantes :
- I,  $\frac{2}{3}$ ,  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{2}{30}$ ,  $\frac{1}{30}$ ,  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{2}{300}$ ,  $\frac{1}{300}$ ,  $\frac{1}{1000}$ ,  $\frac{2}{3000}$ ,  $\frac{1}{3000}$

On effectuera ensuite l'apport de  $CO_3 Ca$ .

PREPARATION DE L'EXTRAIT DE BLE GERME

Faisons germer les grains de blé. Au bout de 6 à 8 jours, les grains de blé germés sont pesés : soit 30 grammes. Ils sont ensuite pilés dans un mortier en présence d'un peu de sable de FONTAINEBLEAU.

On ajoute 50 cc. d'eau et on porte le tout à l'étuve réglée entre 55° et 60° pendant 1 heure.

Filtrons ensuite à chaud et assez vite, de façon à éviter les oxydations qui se produisent rapidement au contact de l'air.

Le filtrat ainsi obtenu est à la concentration I.

L'obtention des diverses concentrations est obtenue à partir de ce filtrat et suivant le même procédé que dans l'expérience précédente.

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES

Résultats des comptages effectués

Tube	Concentration en extrait de blé germé	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
I	I	41.36.36.41. 32.43.40.39. 43.37.38.41. 44.36.41.28.	38,5	25.35.38.27. 28.39.25.26. 35.26.23.39. 34.26.23.37.	37,5
2	$\frac{2}{3}$	26.26.40.28. 29.25.31.32. 26.31.24.28. 29.32.29.38.	28,2	28.24.20.22. 24.22.20.22. 26.20.18.24. 17.38.27.37.	22
3	$\frac{I}{3}$	20.17.19.17. 21.18.16.22. 20.16.18.16. 23.16.13.20.	18,2	12.10.12.10. 13. 9. 9.12. 12.11.11.11. 10.12.20.22.	II
4	$\frac{I}{10}$	15.13. 4.14. 16.14. 6. 9. 9.14.11.16. 10.11. 9.13.	II,5		5,4
5	$\frac{2}{30}$	6.10. 8.10. 11. 7. 9.10. 7. 9. 6. 9. 10. 6. 8.10.	8,5		4,3
6	$\frac{I}{30}$	5. 3. 7.10. 6. 4. 6. 9. 8. 7. 6. 4. 7. 5. 6. 7.	6,2		2
7	$\frac{I}{100}$	4. 2. 7. 5. 5. 3. 4. 5. 6. 2. 6. 4. 5. 4. 7. 3.	4,5		I,8
8	$\frac{2}{300}$	4. 3. 2. 4. 4. 6. 2. 6. 5. 4. 3. 5. 4. 3. 6. 7.	4,2	2. 1. 3. 1. 2. 4. 3. 0. 1. 3. 3. 2. 3. 1. 0. 1.	I,8
9	$\frac{I}{300}$	3. 2. 3. 4. 4. 3. 2. 4. 3. 5. 2. 4. 2. 4. 2. 1.	3	4. 3. 2. 0. 1. 0. 1. 0. 1. 0. 0. 0. 2. 0. 0. 1.	2
10	$\frac{I}{1000}$	6. 6. 6. 2. 4. 3. 5. 8. 5. 4. 2. 9. 6. 6. 2. 6.	5	15.13. 7.14. 16.14. 6. 9. 9.14.11.16. 10.13.12.13.	12
11	$\frac{2}{3000}$	3. 4. 5. 6. 2. 1. 0. 2. 5. 2. 3. 3. 2. 0. 1. 1.	2,5	9. 8.10. 8. 10.10. 9. 8. 10. 7.12.10. 11. 9.10. 7.	9
12	$\frac{I}{3000}$	3. 2. 0. 1. 4. 3. 2. 0. 3. 4. 2. 0. 3. 1. 0. 1.	I,8	6. 6. 6. 2. 4. 3. 5. 8. 5. 4. 2. 9. 6. 6. 2. 6.	5

ACTION DE L'EXTRAIT DE LEVURE DE BIÈRE SUR LE DÉVELOPPEMENT  
DU PERABACTERIUM

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

La composition des tubes s'établit de la façon suivante :

- 3 cc. de solution de  $\text{PO}_4\text{H K}_2$  à 1/1.000 gr./cc.
- 5 cc. de solution de  $\text{SO}_4\text{Mg}$  à 1/100 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $\text{Cl Na}$  à 1,5/1.000 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $\text{SO}_4\text{Mn}$  à 1/10.000 gr./cc.
- 15 cc. de solution de  $\text{SO}_4\text{Fe}$  à 1/10.
- 1 cc. de solution de  $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$  à 0,5/10.000 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $\text{Cl K}$  à 1/10 gr./cc.
- 0,3 gr. de peptone.
- 3 cc. d'extrait de levure de bière aux concentrations suivantes:

I,  $\frac{2}{3}$ ,  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{2}{30}$ ,  $\frac{1}{30}$ ,  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{2}{300}$ ,  $\frac{1}{300}$ ,  $\frac{1}{1000}$ ,  $\frac{2}{3000}$ ,  $\frac{1}{3000}$

On effectuera ensuite l'apport de  $\text{CO}_3\text{Ca}$ .

PREPARATION DE L'EXTRAIT DE LEVURE DE BIÈRE

Pesons 30 grammes de levure de bière. Celle-ci est ensuite pilée dans un mortier en présence d'un peu de sable de FONTAINE-BLEAU et dans lequel on ajoute 50 cc. d'eau.

On porte le tout à l'étuve réglée entre 55° et 60° pendant 1 heure.

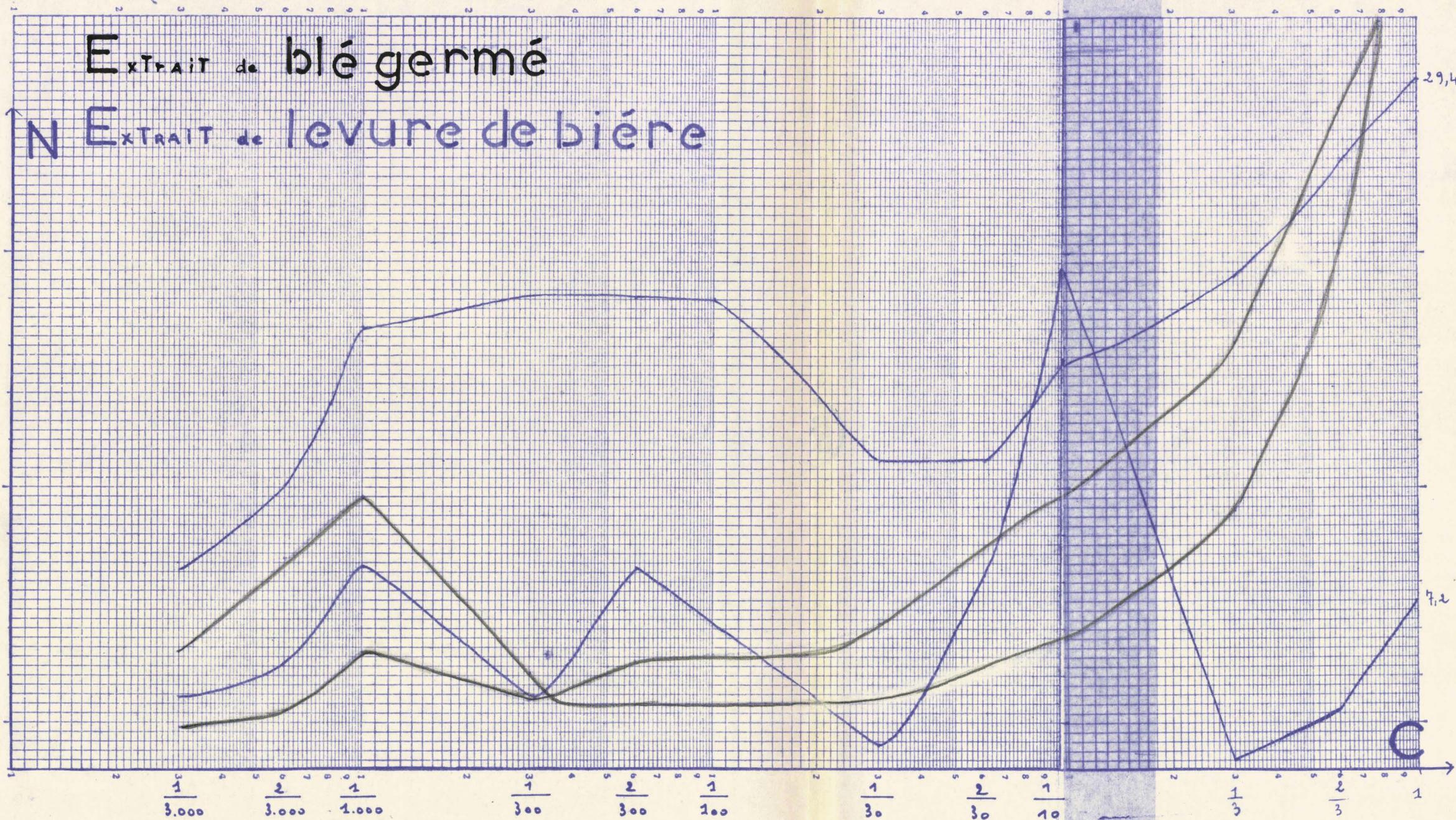
Filtrons ensuite à chaud. Le filtrat ainsi obtenu est à la concentration I.

L'obtention des diverses concentrations est obtenue à partir de ce filtrat et suivant le même procédé que dans l'expérience précédente.

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES

Résultats des comptages effectués.

Tube	Concentration en levure de bière	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p;unité THOMA	Moyenne
I	I	6.12. 7. 9. 6. 5. 4. 7. 9. 8. 6. 7. 9. 8. 8. 5. 4. 3. 2. 2.	7,2	21.36.26.34. 28.26.31.30. 33.29.25.29. 31.32.25.35. 26.28.28.24.	29,4
2	$\frac{2}{3}$	3. 2. 2. 4. 3. 1. 2. 1. 2. 5. 2. 2. 0. 2. 0. 1.	2,5	27.32.19.24. 22.30.31.23. 28.19.33.20. 19.23.22.22.	26
3	$\frac{1}{3}$	1. 0. 0. 0. 0. 0. 1. 0. 0. 0. 1. 0. 23.24.24.20.	0,37	20.21.18.20. 20.18.17.15. 19.14.19. 9. 24.15.17.16.	21
4	$\frac{1}{10}$	24.19.20.17. 22.18.20.24. 17.22.25.22. 8. 7. 6.10.	21,3	21.15.14.18. 20.18.14.19. 13.21.19.16. 16.14.16.17.	17,5
5	$\frac{2}{30}$	10. 7. 6.13. 9. 7. 8.10. 6.11. 9. 6. 1. 0. 3. 2.	8,3	11. 9.11.11. 10. 9.15.17. 15.10.18.11. 17. 9.19.13.	13,1
6	$\frac{1}{30}$	0. 4. 0. 0. 1. 2. 0. 1. 0. 1. 1. 0. 6. 7. 9. 5.	I	16.15. 9. 6. 12.20.14.18. 13.11.10. 8. 20.22.15.23.	13,1
7	$\frac{1}{100}$	7. 9. 5. 2. 6. 7. 6. 5. 8. 6. 5. 7. 9. 9. 8. 8.	6,2	22.18.23.17. 19.16.23.26. 18.16.20.22. 22.24.18.20.	20
8	$\frac{2}{300}$	11.10. 9. 8. 10. 8. 9.11. 13. 7. 8. 6. 3. 5. 4. 3.	9	16.17.23.19. 17.21.23.25. 18.20.16.18. 19.15.18.19.	20,05
9	$\frac{1}{300}$	3. 1. 3. 2. 4. 3. 2. 5. 1. 4. 3. 3. 5.12. 7.10.	3	19.18.14.22. 15.25.21.20. 18.24.21.24. 18.19.20.14.	20,1
10	$\frac{1}{1000}$	7. 9. 8.12. 8. 9.10. 8. 7.10. 9. 9. 2. 6. 2. 4.	8,7	24.16.23.17. 23.16.19.15. 18.17.22.20. 10.15. 9.12.	18,8
11	$\frac{2}{3000}$	3. 7. 6. 6. 5. 3. 4. 6. 3. 7. 2. 6. 4. 5. 2. 1.	4,5	14.20.12. 7. 11.13. 8.10. 9.15.17.12. 6. 7. 9. 7.	12,1
12	$\frac{1}{3000}$	3. 3. 4. 2. 3. 2. 2. 4. 1. 5. 3. 6. 3. 3. 4. 2.	3,1	13.10. 8. 8. 12. 7.10. 8. 6.10. 9. 6. 3. 3. 4. 2.	8,5



## RESULTATS

Signalons que les résultats de comptage doivent être interprétés avec beaucoup de prudence parce que nous avons introduit des extraits végétaux non stérilisés.

Comme dans l'expérience précédente, l'examen des courbes tracées montre que :

- l'apport d'extraits de blé en germination de plus en plus concentrés, améliore le développement du Perabacterium :  
38 bactéries par unité pour un prélèvement de surface.
- l'apport d'extraits de levure de bière de plus en plus concentrés, facilite également le développement de la bactérie :  
29 bactéries par unité pour un prélèvement de surface.

Ces maxima dans les courbes de développement du Perabacterium montrent que l'extrait de blé germé ou l'extrait de levure de bière à la concentration unitaire contiennent le plus de substances oligodynamiques qui favorisent le développement du Perabacterium. U  
↓  
E

Les maxima des courbes de développement obtenus dans l'expérience précédente sont inférieurs à ceux obtenus ici. Cette différence est due à la destruction, dans le cas précédent, des substances oligodynamiques, par stérilisation. Ces substances sont thermolabiles, donc d'origine organique. Dans le cas précédent, seules les substances oligodynamiques d'origine minérale étaient intervenues.

Les variations des courbes seraient dues au fait que l'extrait de blé germé ou extrait de levure de bière ne sont pas homogènes.

ACTION D'UN EXTRAIT D'ARGILE DE GROTTTE ET D'UN  
EXTRAIT DE TERRE SUR LE DEVELOPPEMENT DU  
PERABACTERIUM SPELEI

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

A - EXTRAIT D'ARGILE

La composition des tubes de culture s'établit comme  
suit :

- 3 cc. d'une solution de  $PO_4 H K_2$  à I/I.000 gr./cc.
- 5 cc. de solution de  $SO_4 Mg$  à I/100 gr./cc.
- I cc. de solution de Cl Na à I,5/I.000 gr./cc.
- I cc. de solution de  $SO_4 Mn$  à I/10.000gr./cc.
- 15 cc. de solution de  $SO_4 Fe$  à I/10 molécule gr./l.
- I cc. de solution de  $(SO_4)_3 Fe_2$  à 0,5/10.000 gr./cc.
- I cc. de solution de Cl K à I/10 gr./cc.
- 0,3 gr. de peptone.
- 3 cc. d'un extrait d'argile à diverses concentrations :

$\frac{I}{10}$	$\frac{83}{1000}$	$\frac{66}{1000}$	$\frac{50}{1000}$	$\frac{33}{1000}$	$\frac{20}{1000}$	$\frac{16}{1000}$	$\frac{10}{1000}$	$\frac{I}{1000}$	$\frac{I}{10000}$
----------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	------------------	-------------------

On effectue ensuite l'apport de carbonate de  
calcium.

PREPARATION DE L'EXTRAIT D'ARGILE

Soit un échantillon d'argile de grotte (grotte du laboratoire de MOULIS, salle d'argile).

Mélanger 500 grammes d'argile à 500 cc. d'eau du robinet. Laissons **macérer** 24 heures à la température du laboratoire.

Porter à l'autoclave 1 heure à 130°

Laisser décanter et filtrer à chaud sur le papier.

Le filtrat ainsi obtenu est à la concentration unitaire.

OBTENTION DES DIFFERENTES CONCENTRATIONS

Tube	Apport d'extrait d'argile	Eau	Concentration en extrait d'argile
Tube 1	3 cc.d'un extrait d'argile dilué au 1/1.000	0 cc.	$\frac{1}{10.000}$
Tube 2	3 cc.d'un extrait d'argile dilué au 1/100	0 cc.	$\frac{1}{1.000}$
Tube 3	3 cc.d'un extrait d'argile dilué au 1/10	0 cc.	$\frac{10}{1.000}$
Tube 4	10,5cc.d'un extrait d'argile unitaire	2,5cc	$\frac{16}{1.000}$
Tube 5	3 cc.d'un extrait d'argile dilué au 1/5	0 cc.	$\frac{20}{1.000}$
Tube 6	1 cc.d'un extrait d'argile unitaire	2 cc.	$\frac{33}{1.000}$
Tube 7	1,5cc.d'un extrait d'argile unitaire	1,5cc	$\frac{50}{1.000}$
Tube 8	2 cc.d'un extrait d'argile unitaire	1 cc.	$\frac{66}{1.000}$
Tube 9	2,5cc.d'un extrait d'argile unitaire	0,5cc	$\frac{83}{1.000}$
Tube 10	3 cc.d'un extrait d'argile unitaire		$\frac{1}{10}$

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES

Résultats des comptages effectués.

Tube	Concentration en extrait d'argile	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
10	$\frac{1}{10}$	2. 1. 0. 3. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 0. 1. 0. 0.	0,6	1. 2. 1. 0. 1. 1. 1. 1. 2. 0. 2. 0. 0. 1. 1. 2.	1
9	$\frac{83}{1.000}$	1. 3. 6. 10. 11. 15. 13. 0. 2. 6. 2. 5. 8. 8. 4. 6.	6,1	6. 9. 4. 4. 7. 6. 8. 6. 15. 10. 8. 9. 10. 10. 4. 6.	8,7
8	$\frac{66}{1.000}$	2. 6. 8. 4. 7. 4. 8. 7. 6. 2. 7. 5. 6. 5. 7. 8.	5,7	19. 23. 25. 26. 21. 19. 27. 31. 20. 24. 24. 26. 20. 20. 26. 32.	23,9
7	$\frac{50}{1.000}$	0. 1. 3. 0. 0. 0. 4. 0. 1. 0. 1. 1. 0. 2. 3. 0.	1	2. 2. 3. 2. 1. 1. 4. 2. 1. 3. 2. 3. 0. 2. 3. 3.	2,1
6	$\frac{33}{1.000}$	3. 8. 4. 4. 1. 0. 0. 1. 8. 7. 4. 0. 1. 2. 3. 1.	2,6	0. 0. 2. 0. 0. 2. 2. 3. 0. 2. 1. 3. 0. 1. 0. 2.	1,1
5	$\frac{20}{1.000}$	2. 7. 3. 7. 3. 4. 5. 3. 1. 8. 2. 8. 2. 5. 4. 4.	4,2	2. 1. 0. 1. 1. 1. 4. 3. 3. 1. 4. 1. 0. 1. 1. 2.	1,6
4	$\frac{16}{1.000}$	0. 3. 2. 4. 2. 4. 2. 2. 0. 2. 2. 3. 3. 3. 3. 2.	2,3	0. 4. 0. 0. 2. 0. 1. 0. 0. 5. 0. 0. 1. 0. 2. 0.	0,9
3	$\frac{1}{100}$	0. 0. 0. 2. 0. 0. 0. 4. 0. 2. 0. 0. 1. 1. 0. 2.	0,7	6. 0. 0. 4. 0. 1. 3. 0. 0. 5. 0. 5. 0. 2. 0. 2.	1,7
2	$\frac{1}{1.000}$	1. 2. 4. 2. 3. 5. 0. 1. 2. 1. 5. 1. 4. 4. 1. 0.	2,2	2. 0. 0. 0. 2. 3. 0. 4. 1. 0. 0. 4. 0. 3. 0. 2.	1,3
I	$\frac{1}{10.000}$	4. 3. 4. 3. 1. 2. 2. 2. 3. 4. 4. 3. 2. 1. 1. 3.	2,6	0. 0. 0. 4. 4. 3. 2. 0. 4. 0. 3. 0. 2. 1. 0. 3.	1,6



B - TERRE DE JARDIN

Du point de vue minéral, la composition des tubes de culture s'établit de la même façon que dans l'expérience précédente.

L'apport d'extraits organiques se fera sous forme de :

- 0,3 gr. de peptone.
- 3 cc. d'un extrait de terre de jardin à diverses concentrations :

$$\frac{1}{10}, \frac{83}{1000}, \frac{66}{1000}, \frac{50}{1000}, \frac{33}{1000}, \frac{16}{1000}$$

L'extrait de terre sera préparé comme suit :

Choisir une terre noire riche en humus : terre de jardin cultivé de PH neutre ou légèrement alcalin.

Faire macérer 1 hg. de cette terre dans 1.000 cc. d'eau du robinet pendant 24 heures à la température du laboratoire.

Porter à l'autoclave 1 heure à 130°

Laisser décanter et filtrer à chaud au papier.

Le filtrat ainsi obtenu est à la concentration I.

OBTENTION DES DIFFERENTES CONCENTRATIONS

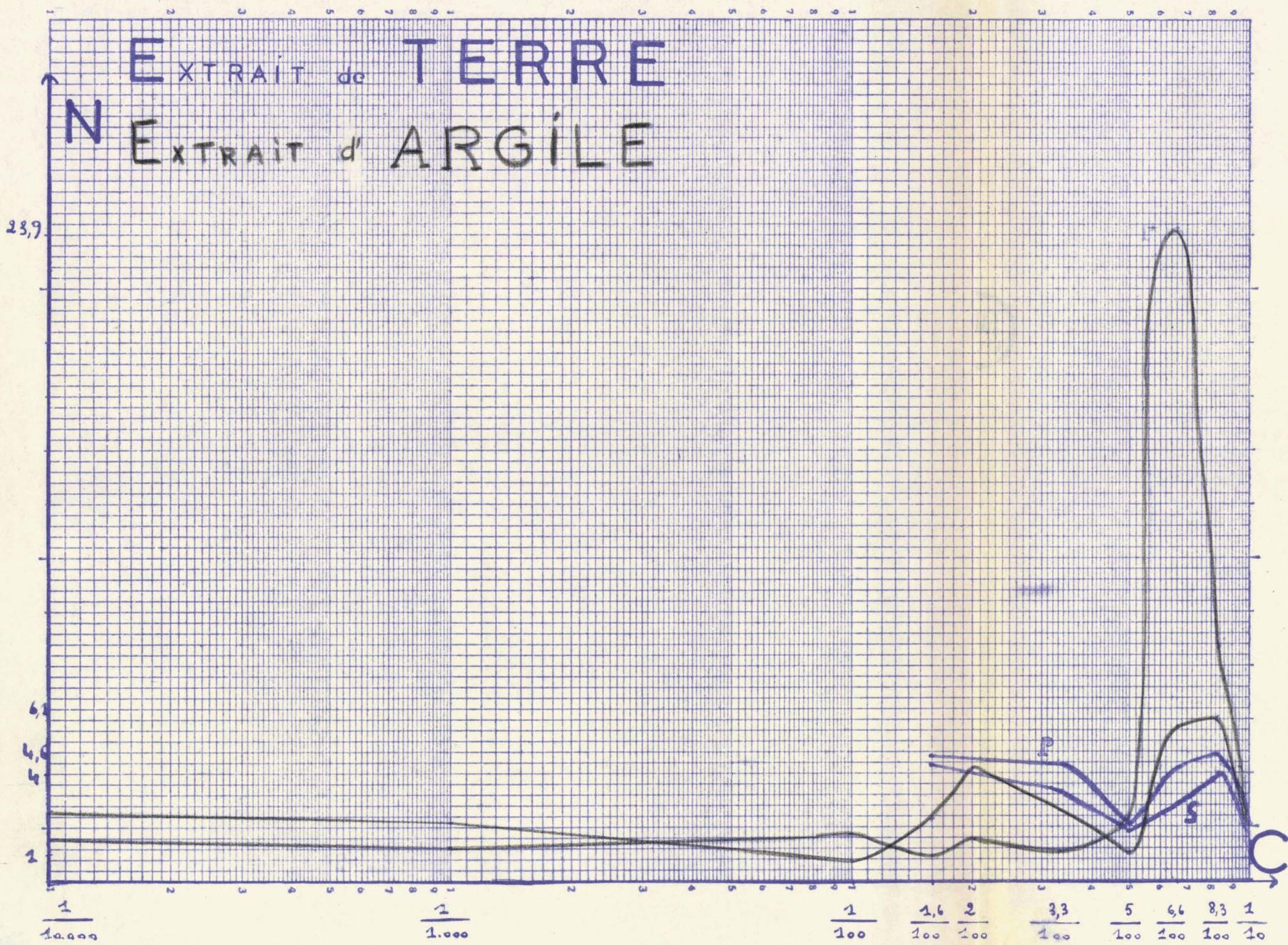
Tube	Apport d'extrait de terre	Eau	Concentration en extrait de terre
1	3 cc.d'un extrait de terre unitaire		$\frac{1}{10}$
2	2,5cc.d'un extrait de terre unitaire	0,5 cc	$\frac{83}{1.000}$
3	2 cc.d'un extrait de terre unitaire	1 cc	$\frac{66}{1.000}$
4	1,5cc.d'un extrait de terre unitaire	1,5 cc	$\frac{50}{1.000}$
5	1 cc.d'un extrait de terre unitaire	2 cc	$\frac{33}{1.000}$
6	0,5cc.d'un extrait de terre unitaire	2,5 cc	$\frac{16}{1.000}$



ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES

Résultats des comptages effectués

Tube	Concentration en extrait de terre	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
0	$\frac{1}{10}$	0. 2. 0. 0. 3. 0. 4. 3. 0. 0. 2. 3. 2. 1. 2. 2.	1,5	3. 1. 2. 1. 0. 2. 4. 5. 3. 4. 5. 1. 0. 1. 0. 1.	2
1	$\frac{83}{1.000}$	3. 7. 2. 5. 1. 5. 5. 4. 4. 6. 3. 4. 2. 4. 6. 3.	4	3. 9. 6. 1. 3. 7. 1. 7. 10. 2. 3. 4. 2. 6. 4. 6.	4,6
2	$\frac{66}{1.000}$	0. 2. 7. 4. 4. 4. 1. 7. 0. 2. 5. 3. 2. 4. 1. 1.	2,9	4. 7. 2. 9. 4. 0. 6. 8. 4. 5. 1. 2. 3. 9. 3. 1.	4,2
3	$\frac{50}{1.000}$	6. 2. 0. 1. 1. 2. 0. 3. 7. 3. 0. 1. 2. 3. 0. 0.	1,9	4. 0. 0. 2. 3. 3. 5. 0. 3. 0. 1. 0. 1. 4. 2. 6.	2,1
4	$\frac{33}{1.000}$	5. 2. 2. 4. 0. 6. 5. 3. 6. 0. 1. 5. 1. 5. 4. 4.	3,3	5. 3. 9. 3. 0. 7. 9. 9. 5. 1. 1. 4. 1. 7. 2. 4.	4,3
5	$\frac{16}{1.000}$	7. 8. 3. 3. 2. 4. 5. 3. 6. 7. 4. 4. 2. 5. 4. 2.	4,3	4. 6. 10. 6. 2. 5. 2. 2. 3. 7. 9. 7. 1. 6. 1. 3.	4,6



## RESULTATS

Lorsqu'on examine les 2 courbes, on constate que l'extrait de terre de jardin n'a qu'une faible action sur le développement du *Perabacterium spelei*.

En effet, le développement maximum

- 4 bactéries par unité pour un prélèvement en surface
  - 4,6 bactéries par unité pour un prélèvement de profondeur
- pour une concentration égale à  $\frac{83}{1.000}$

La courbe de développement du *Perabacterium spelei* en présence d'un extrait d'argile de grotte se montre par contre extrêmement intéressante. Il présente un maximum de :

-23,9 bactéries par unité de THOMA pour un prélèvement de profondeur. J  
LE

L'extrait d'argile contiendrait donc des substances oligodynamiques qui favoriseraient le développement de la bactérie.

Etant donné le mode de préparation (stérilisation à l'autoclave), il apparaît que les substances oligodynamiques seraient d'origine minérale mais, l'existence de substances organiques thermostables n'est pas nécessairement exclue. En effet, la grotte n'est pas un milieu fermé, il peut s'établir entre la surface du sol et la grotte, un réseau de fissures par lesquelles sont amenées dans la grotte, toutes sortes de matières organiques provenant du métabolisme des végétaux ou des travaux effectués par la microflore.

En outre, les bactéries des argiles excrètent des produits organiques. Un certain équilibre peut s'établir qui, pour la valeur de concentration égale à  $83/1.000$  (valeur de comparaison utilisée ici) permettrait un développement favorable du *Perabacterium spelei*.

ACTION DES ULTRA-VIOLETS

Un tube contenant le milieu rendu optimum par la présence de 3cc. d'extrait d'argile, à la concentration de  $\frac{66}{1.000}$  fut soumis à l'action des rayons ultra-violetts pour une durée de 2 heures environ. L'exposition aux rayons U.V. fut réitérée à intervalles réguliers.

Au bout du IIème jour, nous avons obtenu les résultats suivants :

Moyenne	Prélèvement en surface pâr unité de THOMA	Prélèvement en profondeur par unité de THOMA	Moyenne
10,7	I-12-II-II-I3-I9-I0-I9- I2- 2-II-I8- 8- 6- 6- 3-	0- 0- 0- 0- I- 6- 6- 0- 4- 0- I- 0- 0- 0- 0- 3-	1,3

Soit :

- 10,7 bactéries pour un prélèvement en surface.
- 1,3 bactéries pour un prélèvement en profondeur.

L'action des ultra-violetts serait donc nocive au développement du *Perabacterium spelei* dans ce type de milieu et peut être préconisée pour les stériliser préventivement.



PREPARATION DE L'EXTRAIT D'UNE RHIZOSPHERE

Prélevons les poils absorbants d'une cinquantaine de plantes.  
Laissons la terre qui entoure les poils absorbants. Pesons l'ensemble :  
80 grammes.

Ajoutons 80 cc. d'eau.

Pilons cet extrait de rhizosphère dans un mortier.

Faisons bouillir et filtrer.

Le filtrat obtenu est à la concentration I.



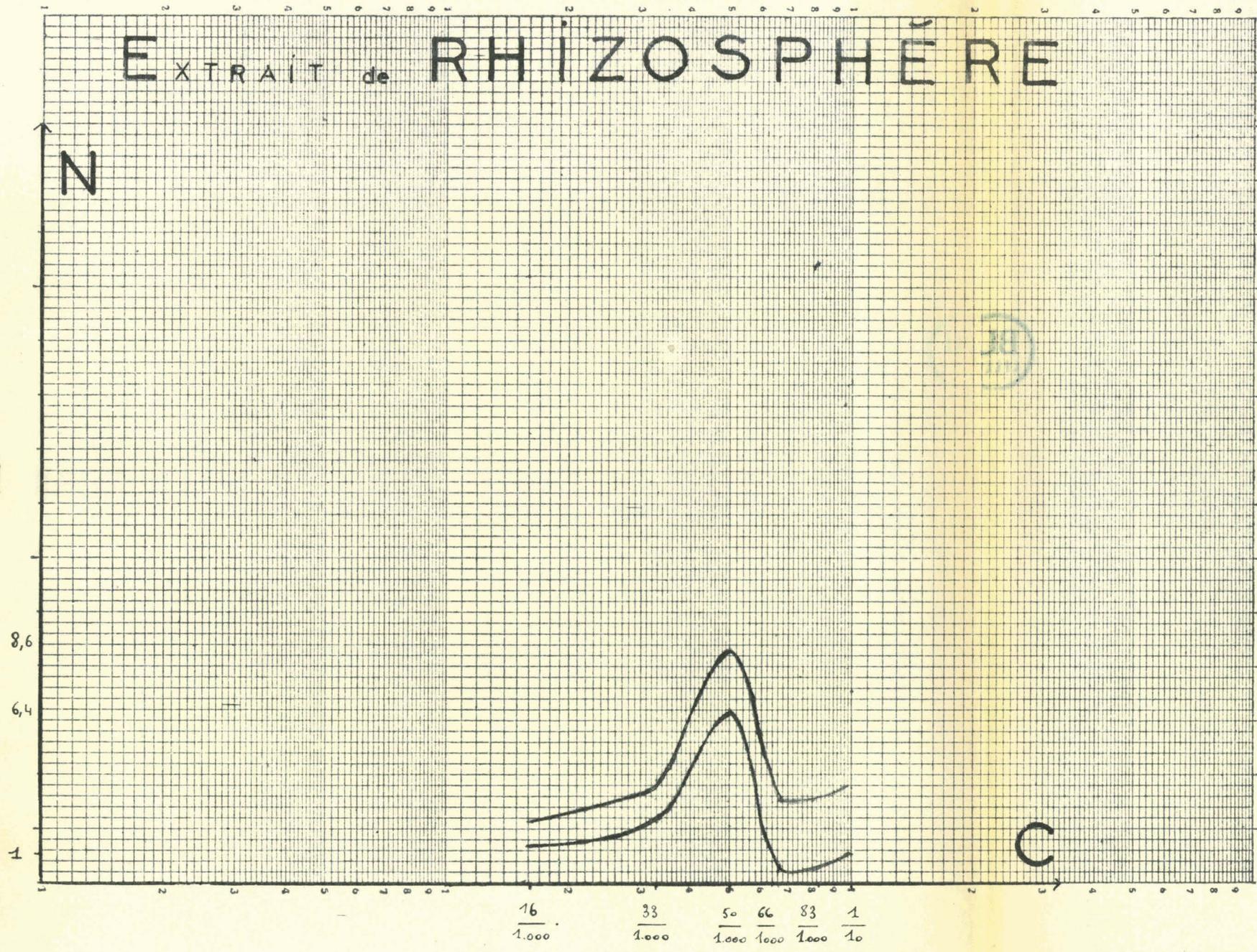
Tube	Apport d'extrait d'une rhizosphère	Eau	Concentration en extrait d'une rhizosphère
I	3 cc. du filtrat unitaire	0	$\frac{I}{10}$
2	2,5cc. du filtrat unitaire	0,5 cc	$\frac{83}{1.000}$
3	2 cc. du filtrat unitaire	I cc	$\frac{66}{1.000}$
4	I,5cc. du filtrat unitaire	I,5 cc	$\frac{50}{1.000}$
5	I cc. du filtrat unitaire	2 cc	$\frac{33}{1.000}$
6	0,5cc. du filtrat unitaire	2,5 cc	$\frac{16}{1.000}$

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES ORGANISMES

Résultats des comptages effectués.

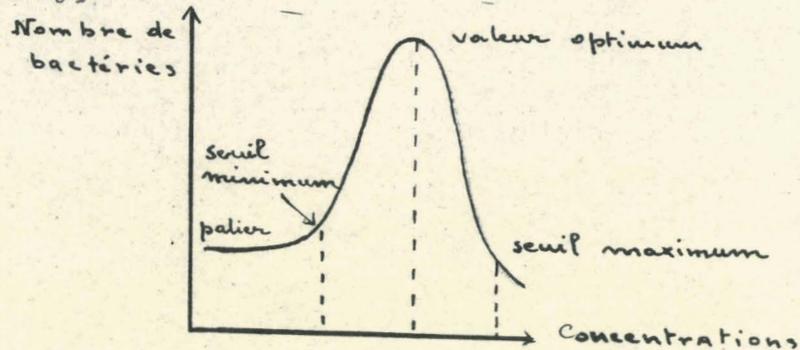
Tubes	Concentration en extrait d'une rhizosphère	Prélèvement en surface N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne	Prélèvement en profondeur N.bactéries p.unité THOMA	Moyenne
I	$\frac{I}{10}$	1. 0. 0. 1.	0,9	6. 7. 4. 0.	3,5
		2. 0. 0. 0.		4. 1. 3. 3.	
		0. 0. 1. 0.		2. 5. 4. 3.	
		1. 0. 1. 0.		4. 3. 3. 4.	
2	$\frac{83}{1.000}$	1. 0. 0. 0.	0,5	3. 2. 6. 2.	3
		1. 0. 0. 0.		3. 0. 0. 0.	
		1. 1. 1. 0.		2. 0. 0. 6.	
		1. 1. 0. 1.		6. 11. 4. 9.	
3	$\frac{66}{1.000}$	1. 0. 0. 2.	0,4	2. 8. 4. 3.	3
		0. 0. 0. 0.		3. 2. 1. 3.	
		1. 0. 1. 0.		1. 2. 5. 4.	
		0. 1. 1. 0.		2. 1. 4. 3.	
4	$\frac{50}{1.000}$	2. 3. 5. 5.	6,4	0. 13. 18. 6.	8,6
		7. 6. 8. 10.		2. 9. 14. 6.	
		5. 7. 5. 1.		9. 14. 15. 6.	
		5. 12. 13. 9.		13. 6. 4. 3.	
5	$\frac{33}{1.000}$	4. 2. 5. 4.	2,3	1. 1. 3. 2.	3,5
		3. 1. 3. 2.		5. 3. 3. 4.	
		0. 2. 3. 2.		5. 1. 8. 5.	
		0. 2. 3. 2.		5. 5. 2. 4.	
6	$\frac{16}{1.000}$	2. 2. 1. 5.	1,3	5. 2. 3. 3.	2,3
		0. 2. 2. 0.		2. 2. 1. 1.	
		0. 0. 1. 0.		4. 1. 3. 2.	
		0. 2. 0. 4.		1. 4. 2. 2.	

# EXTRAIT de RHIZOSPHERE



## RESULTATS

Cette étude de la rhizosphère et les études précédentes conduites dans les mêmes conditions donnent les mêmes résultats, à savoir la courbe caractéristique des oligo-éléments dont nous reproduisons ci-dessous le prototype :



Elle montre que les besoins en oligo-éléments minéraux du *Perabacterium spelei* ne diffèrent pas des besoins des végétaux supérieurs, puisque les substances oligo-dynamiques récupérées dans l'extrait de rhizosphère sont efficaces dans une culture de *Perabacterium spelei*.

C O N C L U S I O N

Dans une première étude, nous avons envisagé l'action des glucides sur le développement du *Perabacterium spelei*. Le saccharose présenterait le meilleur développement.

- 6,5 bactéries par unité de THOMA pour un prélèvement en surface
- 20 bactéries par unité de THOMA pour un prélèvement en profondeur.

Pour les autres glucides, le développement ne dépasse pas :

- 6 bactéries par unité de THOMA pour un prélèvement en surface.
- 7 bactéries par unité de THOMA pour un prélèvement en profondeur.

Les développements se sont révélés assez faibles pour la plupart des glucides, il n'apparaît donc pas judicieux de les faire figurer dans la composition du milieu de culture, puisque nous recherchons avant tout une croissance active du *Perabacterium spelei*. Dans certains cas, par rapport au témoin, il semble que les glucides auraient été inhibiteurs pour le développement.

De même l'hémoglobine et le phytine semblent n'exercer aucune action sur le milieu de culture du *Perabacterium spelei* et leur apport dans le milieu ne s'avère donc pas nécessaire.

Dans une deuxième partie, nous avons étudié l'influence exercée par les extraits de milieux naturels préparés à l'autoclave dans les conditions habituelles de stérilisation, sur le développement du *Perabacterium*. Dans l'ensemble, les résultats ont été satisfaisants, mais il est apparu un développement optimum lorsque l'apport se faisait

- soit sous forme de bouillon de haricots
- soit sous forme d'extrait d'argile.

L'un et l'autre possèderaient des substances oligodynamiques d'origine minérale, cependant l'existence de substances organiques thermostables n'est pas exclue. La nature de ces substances n'est pas déterminée.

Il nous est apparu ensuite utile de rechercher le développement de la bactérie dans un milieu de culture contenant les substances les plus intéressantes révélées par ces recherches, à savoir :

- le bouillon de haricots
- l'extrait d'argile
- ou une combinaison de ces deux extraits.

La composition des tubes s'établit comme suit :

- 3 cc. de solution de  $PO_4H K_2$  à 1/1.000 gr./cc.
- 5 cc. de solution de  $SO_4Mg$  à 1/100 gr./cc.
- 1 cc. de solution de Cl Na à 1,5/1.000 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $SO_4Mn$  à 1/10.000 gr./cc.
- 15 cc. de solution de  $SO_4Fe$  à 1/10
- 1 cc. de solution de Cl K à 1/10 gr./cc.
- l'apport d'extraits de milieu naturel se fait selon le tableau suivant :

Tube	
1	0, 3 gr.de peptone + 3 cc. d'un extrait d'argile à $\frac{66}{1.000}$
2	0, 3 gr.de peptone + 1,5cc d'un extrait d'argile à $\frac{66}{1.000}$ + 1,5cc d'un bouillon de haricots à $\frac{1}{2}$
3	0, 3 gr.de peptone + 3 cc. d'un bouillon de haricots à $\frac{1}{2}$

Au bout de 10 jours d'étuvage, nous avons obtenu les résultats suivants :

POUR LE TUBE 1

- 9,8 bactéries pour un prélèvement de surface.
- 11,5 bactéries pour un prélèvement en profondeur.

POUR LE TUBE 2

- 17 bactéries pour un prélèvement de surface.
- 21 bactéries pour un prélèvement de profondeur.

POUR LE TUBE 3

- 8,3 bactéries pour un prélèvement de surface.
- 10 bactéries pour un prélèvement en profondeur.

RESULTATS

Le développement du *Perabacterium spelei* s'avère optimum lorsque l'apport d'extraits organiques dans le milieu se fait de la façon suivante :

- 0,3 gr. de peptone.
- 1,5 cc. d'un extrait d'argile à la concentration  $\frac{66}{1.000}$
- 1,5 cc. d'un bouillon de haricots à la concentration  $\frac{1}{2}$ .

Ceci nous amène à préconiser pour la culture du *Perabacterium spelei* un milieu qui présenterait les caractéristiques suivantes :

- 3 cc. d'une solution de  $PO_4 H K_2$  à 1/1.000 gr./cc.
- 5 cc. de solution de  $SO_4 Mg$  à 1/100 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $Cl Na$  à 1,5/1.000 gr./cc.
- 1 cc. de solution de  $SO_4 Mn$  à 1/10.000 gr./cc.
- 15 cc. de solution de  $SO_4 Fe$  à 1/10.
- 1 cc. de solution de  $Cl K$  à 1/10 gr./cc.
- 0,3 gr. de peptone.
- 1,5 cc. d'un bouillon de haricots à  $\frac{1}{2}$ .
- 1,5 cc. d'un extrait d'argile à  $\frac{66}{1.000}$

On effectuera, bien entendu, l'apport de carbonate de calcium.



PHOTOGRAPHIE DU PERABACTERIUM SPELEI EN MILIEU AUTOTROPHE

-----  
Grossissement : 22.000

Cliché pris au microscope électronique

Nous distinguons des formes en bissac du *Perabacterium spelei* et des aiguilles d'hydroxyde ferrique, non encore hydratées.

BIBLIOGRAPHIE

CAUMARTIN V.

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

Compte-rendu des séances de l'Académie des Sciences

Tomé CCXLIX - p. I.758 - I.760 - I.957

CAUMARTIN V.

Quelques aspects nouveaux de la microflore des cavernes

Annales de spéléologie -

Tome XIV - fasc. I - 2 p. I47 - I59 I.959

POCHON J. et de BARJAC H.

Traité de Microbiologie des sols - 1958 - DUNOD, PARIS

POCHON J.

Manuel technique d'analyse microbiologique du sol - 1954 -

MASSON & Cie - PARIS.

SARTORY et MEYER

Microbiologie pratique - 1950 - L. MALOUIE PARIS

Diplôme d'Etudes Supérieures - N. POTELLE - Décembre 1960

TABLE DES MATIERES

	Pages
I Introduction	I
II Action du sulfate ferreux sur le développement de Perabacterium spelei	8
III Action du chlorure ferreux sur le développement de Perabacterium spelei	14
IV Action du sulfate ferrique sur le développement de Perabacterium spelei	22
V Détermination du meilleur rapport ionique $\frac{Cl^-}{SO_4^{--}}$	27
VI Action des glucides sur le développement de Perabacterium spelei	32
A - La préparation des milieux	
B - Les tableaux d'obtention des différentes solutions	
C - Les courbes	
D - Résultats	
VII Action de l'hémoglobine sur le développement de Perabacterium spelei	46
VIII Action de la phytine sur le développement de Perabacterium spelei	50
IX Action d'un bouillon de haricots et d'un bouillon de pommes de terre sur le développement de Perabacterium spelei	54
X Action d'un bouillon de blé en germination sur le développement de Perabacterium spelei	65
XI Action d'un extrait de levure de bière sur le développement de Perabacterium spelei	67
XII Action de l'extrait de blé germé obtenu sans ébullition sur le développement de Perabacterium spelei	71
XIII Action de l'extrait de levure de bière obtenu sans ébullition sur le développement de Perabacterium spelei	73
XIV Action d'un extrait d'argile de grotte et d'un extrait de terre sur le développement de Perabacterium spelei	76
XV Action des rayons ultra-violetes sur le développement de Perabacterium spelei	82
XVI Action d'un extrait de rhizosphère sur le développement de Perabacterium spelei	84
XVII Conclusion	89
XVIII Bibliographie	94