

Zeitschrift: Bulletin de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 18 (1926)
Heft: 2

Artikel: Note sur une azotobactérie trouvée dans le Lac de Genève
Autor: Palmans, L.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099609>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

BULLETIN
DE LA
SOCIÉTÉ BOTANIQUE DE GENÈVE

PUBLIÉ PAR LA SOCIÉTÉ

Chaque collaborateur est responsable de ses travaux

LES ABONNEMENTS (SUISSE : 12 fr. — UNION POSTALE : 13 fr. 50)
sont perçus au siège social : Institut de botanique, Université, Genève
Compte de chèques postaux : I. 3088

2^{me} SÉRIE, Volume XVIII fasc. 2.

GENÈVE, Juillet-Décembre 1926

**Note sur une azotobactérie
trouvée dans le Lac de Genève**

par

L. PALMANS

En juin 1924, j'étais à l'Université de Genève. Monsieur le professeur R. Chodat, sachant que je m'intéressais au problème du cycle de l'azote, m'apprit que les eaux du lac de Genève ne contiennent que de faibles quantités d'azote organique, des traces d'azote nitrique, pas d'azote ammoniacal, pas d'azote nitreux. Et cependant, la vie y est intense.

Voici des documents empruntés à l'ouvrage de Forel : *Le Lac Léman*, t. II, Lausanne, Rouge, éditeur, 1895, qui prouvent qu'il en est bien ainsi.

Une analyse chimique des eaux du lac, exécutée par Sainte Claire Deville, en 1846, signale, pour ce qui concerne l'azote :

Azote élémentaire	= 18.4 cm ³ 0/00
Azotate de potassium.....	= 4.0 millig. 0/00
Azotate de sodium.....	= 4.5 millig. 0/00

Une autre analyse chimique, exécutée par Michaud, chimiste cantonal, en 1854, signale :

Azote élémentaire	= 12.5 cm ³ 0/00
Azote nitrique	= 8.4 millig. 0/00

En 1896, le service cantonal trouve dans les eaux, au large de Thonon : Anhydride nitrique = 0.000081 gr. 0/00.

Je citerai encore les analyses publiées par A. Delebecque dans sa Monographie des lacs français :

1. Analyse faite par L. Duparc, d'un échantillon d'eau du lac Léman, pris à la surface, au large de Morges :

Résidu sec par litre, en grammes : 0,1775.

Corps dosés dans le résidu sec, en grammes :

Si O ₂	0.0048	Mg O	0.0106
Fe ₂ Al ₂ O ₃	0.0005	SO ₃	0,0383
Ca O	0,0641	Cl	0,0012

2. Analyse faite par Freundler d'un échantillon prélevé le 18 mars 1891, à la surface, en amont de la rade de Genève.

Résidu sec par litre, en grammes : 0,1778.

Corps dosés dans le résidu, en grammes :

Si O ₂	0.0042	Mg O	0,0114
K ₂ O	0.0018	SO ₃	0,0362
Ca O	0.0658	Cl	0,0011
		Na ₂ O	0,0027

3. Données de M. Schloesing pour les nitrates :

Genève	15 juin 1896,	au large de Thonon	0,81
Annecy	28 juin 1896,	à 1 km. d'Annecy.	0,74
Bourget	28 juin 1896,	au large de Port Puer	1,48
			mgr. de HNO ₃ par litre

Enfin, à Genève, le Service cantonal me communique que les eaux potables, lesquelles proviennent du lac, ont la composition ci-après, en fonction de l'azote :

Matières organiques exprimées en milligr. d'oxygène : de 44 à 51 0/00.

Azote ammoniacal ...	= 0
Azote nitreux.....	= 0
Azote nitrique	= 0

Je signale, en plus : p H = 7,5.

D'où vient donc l'azote biogénique dispensé à la vie hospitalisée dans les eaux du lac de Genève ?

Evidemment, pour la plus grande part, de l'azote de l'air atmosphérique, y dissous.

Puisque la principale source de l'azote biogénique des eaux du lac de Genève est représentée par de l'azote élémentaire, il faut que

¹ « Les Lacs Français » André DELEBECQUE: Chamerot et Renouard, Paris (1898)

son enceinte contienne des êtres vivants capables d'organiser l'azote élémentaire.

Je pense qu'à l'époque de mon séjour à l'Université de Genève, ces organismes fixateurs d'azote élémentaire n'avaient pas encore été recherchés. Pour ce motif, et à cause de la déclaration du professeur R. Chodat, j'ai eu la curiosité de vérifier si des boues que j'avais prélevées, aseptiquement, dans la fosse abyssale du lac de Genève, située au large de Lutry, ne contenaient pas des azotobactéries.

A l'endroit de mon prélèvement, cette fosse abyssale a une profondeur de 307 mètres.

Un échantillon d'eau capté à 300 mètres de profondeur, au même endroit, et analysé par M. Léon Panchaud, du Service cantonal, à Genève, a donné les résultats ci-après :

Matières organiques exprimées en milligr. d'oxygène : = 0.62 0/00.

Azote ammoniacal ...	= 0
Azote nitreux.....	= 0
Azote nitrique	= traces.
p H.....	= 7.7

La boue récoltée appartient au groupe géologique des boues bleues. Ce prélèvement de boue et d'eau a été mené à bonne fin, grâce à l'obligeance dévouée de M. André, professeur de zoologie lacustre à l'Université de Genève.

Cette boue a étéensemencée en bouillon de viande. Les bouillons développés ont été inoculés à des tubes contenant du bouillon de viande agarisé. Les agars développés me sont parvenus, en Belgique, par les soins de M. l'assistant F. Chodat.

Les développements obtenus, tant en bouillon que sur agar, étaient exubérants. Cette conjoncture semble prouver que les germes microbiens cédés par la boue bleue, et qui se sont multipliés, n'ont pas souffert du changement de régime, dominé, en laboratoire, par la disparition des effets d'une pression d'eau de 30 atmosphères, sous laquelle ils vivent dans la fosse abyssale de Lutry. Malgré cette apparence, je pense qu'il n'en est rien, tout au moins pour ce qui concerne la bactérie en cause dans cette note.

Quoiqu'il en soit, les bouillons développés dans mon laboratoire ont été soumis à la culture élective, pendant de nombreux mois, à raison d'un passage tous les 15 jours sur le milieu suivant, préconisé

par Beyerinck, le grand savant hollandais auquel on doit la découverte des azotobactéries, fixateurs aérobies d'azote élémentaire.

Eau distillée.....	1.000 gr.
Phosphate potassique primaire.....	0.2 gr.
Mannite	20 gr.
Gélose	20 gr.

L'incubation a été conduite à 25-28° C., au début. Dans la suite, j'ai constaté que les meilleurs rendements s'obtiennent par une incubation de 5 jours, environ, à 25-28° C., suivie d'une incubation à 15-18° C.

Chaque culture de la série élective a fait l'objet d'un examen microscopique. Ces examens microscopiques m'ont donné l'impression que la ségrégation s'est faite très rapidement, si pas d'emblée.

Le dernier développement de la culture élective a été émulsionné en eau stérile. Cette émulsion a servi à produire des colonies sur plaque de bouillon de viande gélatiné.

Toutes ces colonies étaient identiques. Transférées en bouillon, elles donnèrent des développements qui furent à nouveau cultivés en série élective sur le milieu agarisé de Beyerinck décrit-ci-dessus. Ainsi de suite, plusieurs fois, chaque série élective subissait l'épreuve finale d'une purification par le procédé des colonies sur plaque de bouillon de viande gélatiné.

Si la technique préconisée par Beyerinck est bonne, j'ai isolé, *a priori*, une azotobactérie de la population microbienne qui habite les boues de la fosse abyssale située au large de Lutry.

Le milieu agarisé de Beyerinck que j'ai employé, ne contient, en effet, que des traces d'azote combiné. Cette trace d'azote combiné est d'ailleurs indispensable pour provoquer le départ d'une culture effectuée aux dépens de l'azote élémentaire, ainsi que l'a démontré, le premier, Mazé, dans ses belles études sur la fixation de l'azote élémentaire par le bacille des nodosités radicales des Léguminacées. (*Ann. de l'Institut Pasteur*, t. XII, 1898).

L'agar que j'ai employé pour préparer le milieu de Beyerinck titre, par gramme, 0,0047 d'azote. Chaque tube à culture contient 7 c³ du milieu de Beyerinck. Par conséquent, la masse totale de chaque tube à culture contient 0,000658 d'azote (= 0.0007).

A retenir, en plus, que la culture ne se développe qu'à la surface du plan incliné de l'agar.

Le dosage de l'azote contenu dans l'agar a été exécuté par la méthode de Kjeldahl : acide sulfurique monohydraté, mercure métallique. Titration directe au moyen d'acide chlorhydrique normal cinquième. Témoin : acide rosolique.

Voici le résumé des observations que j'ai faites concernant le germe isolé par la méthode que je viens de décrire.

En lisant le compte-rendu de ces observations, il ne faut jamais oublier que ce germe vit normalement sous une pression d'eau de 30 atmosphères et à une température inférieure à 10° C. Au moment du prélèvement de la boue qui a livré ce germe, la température de l'eau, à un mètre au-dessus d'elle, était de 6,8° C. Il est probable que cette température est constante.

La vie de ce germe, en laboratoire, est donc anormale.

Description des cultures

Ces cultures ont été observées pendant 30 jours. Ces observations ont été contrôlées un grand nombre de fois. Sauf indication particulière, leur incubation s'est faite à la température de 25-28° C. qui semble la température optimale pour les essais de laboratoire, le plus souvent. Les milieux à base de bouillon de viande sont confectionnés avec de l'extrait de viande et de la peptone. Ils ont une alcalinité totale, potentielle et réelle, de 0,2 gr. de soude caustique pour mille. Ces milieux ne contenant pas de composé tampon, il est impossible de leur conférer un p H constant. Bien que l'emploi du phosphate secondaire sodique soit tout indiqué pour combler cette lacune réelle, je n'ai pas encore pris de décision à ce sujet, la procédure de son emploi n'étant pas encore mise au point.

Bouillon de viande.

Après 24 heures d'incubation : Développement faible. Ondes soyeuses.

Après 5 jours d'incubation : Le développement ne s'est guère accentué.

Après 8 jours d'incubation : Pas de changement.

Après 30 jours d'incubation : Présence d'un léger dépôt dans le fond de la culture. Celle-ci est notablement clarifiée. La réaction du milieu est encore alcaline.

Bouillons de viande sucrés : dextrose, lévulose, galactose, saccharose, maltose, lactose.

Après 24 heures d'incubation : Développement assez accentué, avec tous les sucres. Présence de petits grumeaux dans toute l'étendue du volume de la culture. Ondes soyeuses, production d'une fine mousse à la surface de la culture, due à un dégagement continu de bulles de gaz.

Après 5 jours d'incubation : Le développement ne s'est pas amplifié.

Le dégagement gazeux est terminé.

Après 8 jours d'incubation : Pas de changement.

Après 30 jours d'incubation : Clarification partielle. Dépôt. La réaction est encore alcaline.

Bouillon de viande agarisé.

Après 24 heures d'incubation : Développement faible constitué par une population de petites colonies arrondies et translucides, isolées ou confluentes, donnant à l'ensemble du développement un aspect chagriné (examen à la loupe).

Après 5 jours d'incubation : Le développement ne s'est pas amplifié. Quelques colonies isolées ont cependant légèrement augmenté de volume. L'ensemble du développement a pris un léger reflet métallique.

Après 8 jours d'incubation : Rien à signaler.

Après 30 jours d'incubation : Rien à signaler.

Bouillon de viande gélatiné.

Incubation : 15-18° C. Colonies. Les colonies superficielles présentent les caractères suivants :

Cupule de liquéfaction dont l'ensemble comprend :

Un bouton central blanc opaque.

Une zone concentrique translucide.

Une zone concentrique gris perle.

Une zone concentrique translucide, marginale. Cette cupule s'étend progressivement et régulièrement.

Piqûre profonde. = En piqûre profonde, on obtient une liquéfaction en entonnoir. Par extension, la liquéfaction gagne progressivement toute la masse gélatinée.

Après 30 jours, la liquéfaction est presque totale, pour un volume de 10 c³ de milieu. A ce moment, le développement microbien forme une masse floconneuse, blanche, déposée au niveau non encore liquéfié, du bouillon de viande gélatiné.

Lait.

Après 24 heures d'incubation : Rien à signaler.

Après 5 jours d'incubation : Le lait est énergiquement caillé.

L'aspect de la culture est curieux. La caséine précipitée occupe la moitié longitudinale du tube à culture. L'ensemble comprend un demi cylindre de caséine précipitée et un demi cylindre de sérum. La réaction du sérum est fortement acide.

Après 8 jours d'incubation : La caséine précipitée est fortement contractée. La réaction du sérum reste acide.

Après 30 jours d'incubation : La caséine est affaissée. La réaction du sérum reste acide. Le sérum prend une teinte jaune pâle.

La culture de ce germe, dans le lait, présente une constance remarquable. Pour la bien réussir, maintenir le tube contenant la culture, verticalement.

Agar mannite Beyerinck. (Ce milieu a servi à la culture élective.)
Après 24 heures d'incubation : Développement semblable en tout point au développement obtenu sur bouillon de viande agarisé.
Après 5 jours d'incubation : Développement abondant, translucide, glaireux, élastique, visqueux. Quelques bulles de gaz sont emprisonnées entre la masse de l'agar et la paroi du tube à culture.

Si on continue, alors, l'incubation à la température de 15-18° C., on constate que le développement progresse lentement, pendant plusieurs semaines. A ce moment, la récolte glaireuse est devenue très importante. Son épaisseur atteint plusieurs millimètres.

Pomme de terre.

La base de ce milieu de culture plonge dans de l'eau distillée dont le volume est augmenté par l'eau exprimée par la pomme de terre au cours de la stérilisation.

Après 24 heures d'incubation : Pas de développement appréciable.
Après 5 jours d'incubation : Développement glaireux, semblable à celui obtenu sur agar mannite Beyerinck. L'eau, dans laquelle baigne le fragment de pomme de terre, est couronnée par une mousse abondante.

Après 8 jours d'incubation : La pomme de terre est fortement désagrégée.

Après 30 jours d'incubation : La désagrégation de la pomme de terre s'est fortement accentuée.

Carotte.

Le développement a la même allure que le développement sur pomme de terre. Mêmes phases au cours de l'incubation de 30 jours.

Milieu liquide de Beyerinck.

Je donne ce nom au milieu de culture suivant :

Eau naturelle.....	1.000 gr.
Phosphate potassique secondaire	0.2 gr.
Phosphate ammonique secondaire	0.2 gr.
Mannite	20 gr.

(Voir *Centralblatt für Bactériologie*, 1901, p. 575.)

Après stérilisation, ce milieu contient un précipité de carbonates alcalino-terreux.

Les cultures ont été faites dans des vases d'Erlenmeyer d'une capacité de 1 litre. Chaque vase contenait 100 c³ du milieu de culture.

Incubation initiale : 25-28° C., pendant 5 jours. Dans la suite, incubation à 15-18° C.

Après 48 heures d'incubation, les carbonates alcalino-terreux ont repris la forme soluble de bicarbonates. Cette transformation se fait sous l'influence de l'anhydride carbonique dégagé par la respira-

tion du germe. A ce moment, la culture est constituée par des grumeaux isolés qui s'étirent par agitation.

Après 5 jours d'incubation : Production d'un léger voile. Dégagement gazeux faible.

Après 15 jours d'incubation : L'agitation de la culture provoque de longues traînées.

Après 4 mois d'incubation : La culture est métamorphosée en une vaste zooglé.

Pour réussir les cultures que je viens de décrire, il faut emprunter les prises d'ensemencement à une culture en bouillon de viande.

Pour conserver le germe en collection, utiliser l'agar mannite Beyerinck.

Pour provoquer l'éclosion d'une nouvelle génération, inoculer du bouillon de viande au moyen d'une culture sur agar mannite Beyerinck.

Ces indications impératives ne sont pas habituelles en matière de technique microbienne. Elles se justifient, cependant, par l'expérience.

A signaler, également, que d'une culture à l'autre, ce germe dégénère brusquement : les milieux inoculés restent stériles. Il en est plus particulièrement ainsi pour les ensemencements sur agar mannite et en milieu liquide Beyerinck. Parfois, aussi, ces deux milieux inoculés ne se développent qu'après une période d'inertie pouvant se prolonger pendant plusieurs semaines.

En cas de dégénérescence, avoir recours à une autre culture, empruntée aux collections.

A signaler, enfin, les différentes températures à employer pour les incubations.

Ces anomalies prouvent que ce germe, en laboratoire, subit les effets de la disparition de la pression d'eau de 30 atmosphères qui domine son habitat, dans la fosse abyssale de Lutry.

Remarques tirées de l'observation des cultures.

1. Les milieux de culture contenant une quantité notable d'azote organique donnent des récoltes faibles.

2. Les milieux de culture pauvres en azote combiné donnent des récoltes abondantes.

ETUDE MICROSCOPIQUE

A. = Après coloration au violet de gentiane hydro-alcoolique.

Bouillon de viande.

Après 24 heures d'incubation : Formes bacillaires dont la longueur varie. Dimensions relevées : 2,8, 4,3, 5,7, 8,6 μ de long ; 0,7 μ de large. Bouts arrondis. Petites agglomérations en broussaille et, parfois, en palissade. Les formes bacillaires de grande taille sont parfois incurvées à une ou aux deux extrémités.

Après 8 jours d'incubation : Rien à signaler.

Après 30 jours d'incubation : Quelques formes bacillaires presque toujours en voie de désagrégation. Il semble que les zymases protéolytiques secrétées par le germe finissent par le lyser. Pas de spores.

Bouillons de viandes sucrés.

Voir examens microscopiques de la culture en bouillon de viande.

Bouillon de viande agarisé.

Après 24 heures d'incubation : Formes bacillaires dont la longueur varie. Agglomérations bacillaires plus touffues que dans la culture en bouillon de viande, mais présentant la même allure. Quelques associations en V rappelant celles du bacille de la diphtérie de Löffler.

Après 5 jours d'incubation : Apparition de spores ovalaires, dont les dimensions sont : longueur : 1,5 μ , largeur = 0,9 μ (arthrospores). La sporulation est équatoriale.

Après 30 jours d'incubation : La culture ne contient plus que des spores. Cette sporulation totale prouve la pureté de la culture. Elle a été exploitée pour obtenir des générations de contrôle.

Bouillon de viande gélatiné.

Après 30 jours d'incubation : Les germes présentent la lyse constatée dans les cultures en bouillon de viande, âgées de 30 jours. Pas de spores.

Lait.

Après 5 jours d'incubation : Les formes bacillaires déjà décrites. Quelques formes bacillaires de très grande taille. Pas de filament. La longueur des formes bacillaires de grande taille varie. Ces formes bacillaires géantes sont incurvées ou légèrement ondulées. Pas de spores.

Après 30 jours d'incubation : Rien à signaler pour ce qui concerne les thalles végétatifs. Spores extrêmement rares.

Agar mannite Beyerinck.

Après 5 jours d'incubation : Bacilles bouts arrondis, longueur variable. Ces bacilles sont englués dans des traînées rappelant les formations vermiculaires des cultures fixatrices d'azote élémentaire du bacille des nodosités radicales des Léguminacées. Je rappelle que ces dernières formations vermiculaires sont biologiquement identiques à celles qui constituent le faux mycélium qui s'organise dans le tissu des jeunes nodosités radicales des Léguminacées. Je rappelle encore que ce faux mycélium est une réserve d'azote combiné créée par le bacille des nodosités radicales aux dépens de l'azote élémentaire. (Voir travaux de Mazé : *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1897, 1898.)

Après 30 jours d'incubation : Présence de formes d'involution représentées par de longs thalles fortement sinueux. Spores extrêmement rares.

Après 4 mois d'incubation : Pas de modification.

Milieu liquide Beyerinck.

Voir examens microscopiques de la culture sur agar mannite Beyerinck.

Pomme de terre et carotte.

Après 30 jours d'incubation : Quelques formes d'involution représentées par des thalles d'une très grande longueur. Spores extrêmement rares.

B. = Sans coloration

Bouillon de viande et bouillon de viande agarisé.

Bacilles mobiles. Les bacilles des amas bacillaires sont immobilisés. Parfois l'un ou l'autre d'entre eux accuse encore une faible motilité, sur place. Les bacilles englués sont immobiles. Il en est de même pour le bacille des nodosités radicales des Léguminacées : dans le sol, ils sont mobiles ; englués dans le faux mycélium des jeunes nodosités radicales, ils sont immobiles.

Remarques tirées de l'examen microscopique des cultures

1. Disparité dans la longueur du thalle.

Cette particularité n'est pas rare dans le monde microbien. Il en est ainsi, exemples entre mille, pour *Typhi murium*, variété Danisz (virus de Danisz), *Bacillus proteus* Hauser, *Bacillus diptheriae* Löffler, l'*Urocephalum* de la fermentation hydrogénée de la cellulose. Quant aux formes d'involution caractérisées par une élongation du thalle, elles ne sont pas moins fréquentes. Il en est ainsi, notamment, pour *Spirillum cholerae* Koch, et pour le bacille des nodosités radicales des Léguminacées. (Voir travaux de Mazé : *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1898, pl. I, vignette 10.)

2. Sporulation totale de la culture sur bouillon de viande agarisé. Ce phénomène prouve que ce milieu de culture devient rapidement hostile au germe de la boue abyssale.

3. Absence de sporulation en bouillon de viande et en bouillon de viande gélatiné, liquéfié.

L'absence de sporulation, dans ces deux milieux, est peut-être due à un défaut d'oxygène.

La lyse microbienne prouve également l'hostilité de l'ambiance réservée à ce germe, très rapidement, dans ces deux milieux de culture.



Fig. 1. — G = 1300.
Culture âgée de 24 heures, en bouillon
de viande alcalinisé.



Fig. 2. — G. = 1300.
Culture âgée de 5 jours, sur bouillon
de viande agarisé et alcalinisé

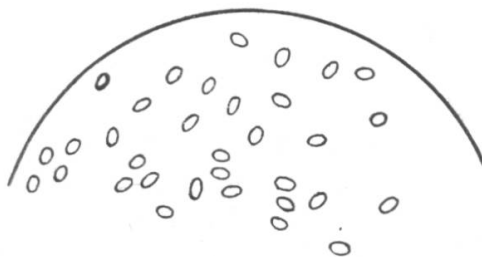


Fig. 3. — G = 1300.
Culture âgée de 30 jours, sur bouillon
de viande agarisé et alcalinisé.

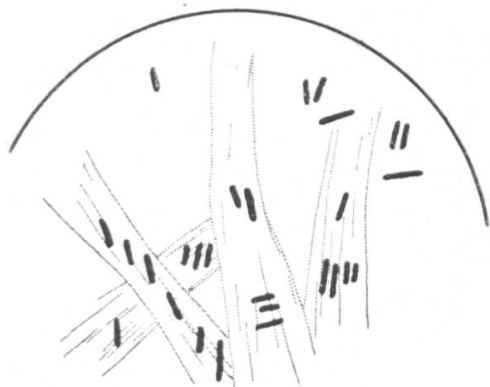


Fig. 4. — G = 1300.
Culture âgée de 5 jours sur agar
mannite de Beyerinck.

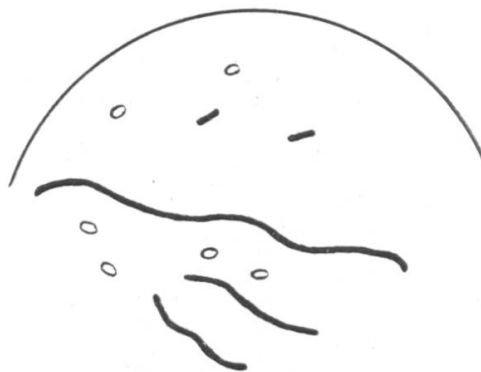


Fig. 5. — G. = 1300.
Culture âgée de 30 jours, sur carotte
ou pomme de terre.

L'ensemble des données culturales et microscopiques prouve que les milieux de cultures pauvres en azote combiné sont favorables à la prolifération de ce germe. En effet :

Dans un tube contenant un fragment de pomme de terre, il y a environ : 0.0150 d'azote.

Dans un tube contenant un fragment de carotte, il y a environ : 0.0100 d'azote.

Dans 100 c³ du milieu liquide Beyerinck, il y a 0.0042 d'azote.

Dans un tube contenant de l'agar de mannite de Beyerinck, il y a : 0,0007 d'azote.

Or, sur tous ces milieux de culture solide, le développement ne se fait qu'en surface. Et de tous ces milieux de culture, le plus rémunérateur est l'agar mannite qui est, en même temps, le plus pauvre en azote combiné.

Se souvenir également de la longueur de la vie végétative dans tous les milieux pauvres en azote combiné, auxquels il faut joindre également le sérum de lait, pauvre lui aussi, en azote combiné.

Les considérants ci-dessus semblent favorables à l'hypothèse conférant à ce germe une aptitude à pouvoir intriquer l'azote élémentaire.

Résumé des observations biologiques

Ce germe :

Décompose les principaux sucres avec libération gazeuse.

Coagule le lait.

Ne produit pas d'indol.

Ne produit pas d'acide sulfhydrique. Pour ce dernier motif, il n'intervient pas dans la production des boues bleues du lac. (Voir *Comptes rendus de la Société de physique et d'histoire naturelle de Genève*, 1925 : « Notes sur la formation des boues bleues ».)

Quand j'ai constaté, au cours de la série culturale élective, le développement glaireux sur agar mannite Beyerinck, j'ai pensé, tout d'abord à la production d'un élément de défense. Je m'explique :

Bordet, le premier, a découvert que les streptocoques d'une injection de laboratoire, qui résistaient à la phagocytose, s'étaient encapsulés. Dans la suite, Wollman constate le même mécanisme de défense chez des bacilles du charbon bactérien. L'ennemi, dans le cas du bacille de la boue abyssale, c'est la pression atmos-

phérique ordinaire du laboratoire ; l'élément à protéger, le cytoplasme dont le pouvoir osmotique doit être élevé ; l'artifice de défense, la gaine muqueuse jouant le rôle de tampon osmotique. Il n'en est rien, cependant, car cette glaire n'apparaît pas sur bouillon de viande agarisé.

La glaire qui se développe sur agar mannite Beyerinck se colore en jaune sous l'influence du réactif de Gram et, en rose, sous l'influence du réactif de Millon. Sa constitution est donc voisine de celle de l'azote albuminoïde. Dès ce moment, des recherches d'ordre chimique s'imposaient.

Ces recherches ont été faites dans les conditions ci-après :

Vase Erlenmeyer d'une capacité de 1 litre, contenant 100 c³ d'agar mannite Beyerinck, ou 100 c³ du milieu liquide du même expérimentateur. Après ensemencement, au moyen de quelques gouttes d'une émulsion de glaire en eau stérile, incubation de 48 heures à 25-28° C. L'incubation, après ce temps, est continuée vers 18-20° C. Un courant d'air atmosphérique épuré circule dans le vase à culture, à raison de 20 litres par 24 heures. L'épuration de l'air atmosphérique est obtenue comme suit : filtration sur bourre de ouate qui retient les corpuscules vivants et inertes, ainsi que les cristaux de nitrite et de nitrate ammoniacal, nés du phénomène de Cavendish en présence du carbonate ammoniacal atmosphérique sorti des eaux marines ; passage dans un tube à pierre ponce sulfurique qui retient les vapeurs ammoniacales, nitreuses et nitriques. (Cette fixation des vapeurs nitreuses et nitriques au moyen d'acide sulfurique est réalisée, en grand, dans l'industrie, par la tour de Glover). Barbotage en eau de chaux saturée, qui fixe éventuellement les vapeurs acides non retenues, ainsi que l'anhydride carbonique, et chargent d'un minimum de vapeurs d'eau le courant d'air asséché par son passage dans un tube à pierre ponce sulfurique. Des index de ouate séparent les épurateurs entre eux. Un index de ouate sépare le vase à culture des épurateurs. Chaque jour, une longue agitation du vase à culture favorise le renouvellement des gaz dissous dans le milieu de culture, quand c'est le liquide de Beyerinck qui est utilisé.

Durée des essais : 15 jours ; puis ensuite, 30 jours.

Ces essais ont échoué.

Voici pourquoi, je pense :

Pour doser l'azote des cultures à cause de la présence de la man-

nite, j'ai utilisé la méthode de Kjeldahl-Gunning, laquelle, je l'ai su trop tard, provoque des pertes d'azote, dans des conditions qu'il n'est pas toujours facile d'éviter. (Voir *Chemischer Zeitung*, Repertorium, 1912, t. 36, p. 613.)

Cette méthode n'est donc pas à conseiller pour des recherches de petites quantités d'azote. Dans ce cas, lui substituer la méthode que j'ai indiquée ci-dessus pour la détermination de l'azote dans l'agar.

Averti, j'ai fait un nouvel essai en milieu liquide Beyerinck.

Quantité de milieu = 100 c³.

Durée de l'inoculation : 60 jours.

Gain en azote : 2,26 milligrammes.

Ce gain est faible, je n'hésite pas cependant à l'accuser. Voici pourquoi :

Ce germe a toutes les allures d'un fixateur d'azote élémentaire.

Sa vie en laboratoire est anormale et, pour ce motif, ses fonctions biologiques probablement modifiées.

L'analyse chimique de 4 prises d'essais-témoins, de 100 c³ du liquide de Beyerinck ayant servi à cette dernière recherche, a donné quatre fois rigoureusement le même résultat : 0.004194 d'azote.

Tous les dosages, que je ne publie pas, présentent cette particularité constante : le gain azoté, qui tombe chaque fois dans la limite des erreurs expérimentales, s'inscrit toujours au compte des cultures. En d'autres termes, pour chaque série d'essais, témoin et culture, c'est toujours la culture qui accuse la teneur azotée la plus élevée.

Vu la longueur de sa vie végétative dans les milieux de Beyerinck liquides ou agarisés, il se peut très bien qu'une incubation prolongée accuse un gain azoté plus important.

Il se peut très bien aussi que son pouvoir fixateur normal soit faible. Seulement, il est facile de concevoir, que dans ce cas, les effets accumulés de son pouvoir synthétique, par sa population totale, peut fournir, à la vie du lac, une quantité notable de son azote biogénique.

Je n'ai pas poussé mes recherches plus loin.

J'ai fait parvenir quelques cultures de ce germe à M. le professeur R. Chodat. A lui de décider s'il convient de faire vérifier et compléter mon travail par ses élèves.

J'ai donné à ce germe le nom : *Azotobacter Chodati*.

Institut Agronomique de Gembloux, 1924-1926.