

Zeitschrift: Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Band: 58 (1933-1935)
Heft: 232

Artikel: Étude biologique d'une bactérie du sol fixant l'azote atmosphérique.
Part 1
Autor: Porchet, Berthe
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-272159>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 16.10.2024

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

**Etude biologique d'une bactérie du sol
fixant l'azote atmosphérique***(Première communication.)***PAR****Berthe PORCHET***(Séance du 1^{er} février 1933.)*

De nombreuses observations sur le polymorphisme des bactéries, consignées dès 1860 déjà, dans la littérature bactériologique, avaient fait supposer que la biologie des bactéries, en particulier leurs phénomènes de reproduction, n'était pas aussi simple qu'on l'avait cru au premier abord. En 1916, Löhnis, étudiant les bactéries du sol, plus spécialement les Azotobacters fixateurs d'azote élémentaire, précisa la théorie du cycle évolutif des bactéries, ébauchée par quelques anciens bactériologistes. Il confirma les observations faites par ses prédécesseurs, en montrant que la division par bipartition et la sporulation ne sont pas les seuls modes de reproduction possibles, que l'on peut retrouver chez les bactéries certaines formes de multiplication observées chez les champignons (conidies ou exospores, gonidies ou endospores prenant naissance en grand nombre au sein de la cellule qui devient un gonidange ou sporange, arthrospores).

Ses conclusions, selon lesquelles toutes les bactéries passeraient par des stades d'évolution complexes et présenteraient des modes de reproduction variés, ont été très discutées et diversement accueillies, car il leur manquait parfois la certitude que donne l'étude d'une culture pure, obtenue d'une seule cellule.

Nous avons repris cette question en étudiant une bactérie du sol, fixant l'azote atmosphérique, apparue dans une culture de terre sur silico-gel mannité. Les formes insolites observées dans les colonies âgées ont attiré notre attention sur le polymorphisme de cet organisme.

Technique.

Nous avons isolé sous le microscope, une cellule unique, ce qui est possible, grâce aux grandes dimensions de cette bactérie. La certitude de pureté de la culture est absolue. Les observations ont été faites sur le matériel vivant, par examen direct des bactéries sur plaque d'agar ou en suspension dans l'eau, et sur les microorganismes fixés par les vapeurs osmiques et colorés à la fuchsine de Ziehl. Les microphotographies représentent les bactéries à un grossissement de 1200 diamètres.

Caractères de l'espèce.

Les colonies très jeunes (6-12 heures) sont constituées par des bactéries de $5-8 \times 1-3 \mu$, qui se colorent d'une façon homogène par tous les colorants usuels, Gram +, immobiles (fig. 1), donnant fréquemment des formes longues, filamenteuses, atteignant 20-200 μ (fig. 5).

Sur *gélatine*: liquéfaction en cupule, qui s'étend rapidement à toute la plaque; les formes filamenteuses sont très nombreuses; la culture est filante par suite de la formation d'une substance gommeuse.

Sur *agar*: colonie blanche ou légèrement jaunâtre, brillante, de consistance crèmeuse, rayonnée et striée concentriquement. Certaines cultures sont filantes. D'autres présentent des secteurs.

Sur *lait*: coagulation au bout de 2-3 semaines; formes filamenteuses très longues.

Sur *pomme de terre*: culture jaune vif, épaisse, lisse.

Sur *bouillon peptoné*: développement superficiel en voile et anneau; liquide trouble; dépôt.

Sur *agar mannité* (sans azote combiné): développement normal.

Evolution de la bactérie.

Sauf mention spéciale, les observations qui suivent ont été faites sur des cultures en milieu solide, dont la composition, détaillée ci-après n'a pas varié au cours de l'étude.

Agar de Stoklasa.		
Eau	1000	cc.
Glucose	10	gr.
KH ² PO ⁴	1	gr.
MgSO ⁴	0,3	gr.
NaCl	0,1	gr.
KNO ³	0,1	gr.
FeSO ⁴	0,1	gr.
CaCO ³	0,5	gr.
Agar	12	gr.
NaOH	q. S.	pour pH 7

Dès 24 heures après ensemencement, on observe dans le protoplasme vivant, primitivement homogène et optiquement vide, des granulations réfringentes qui, sur le matériel fixé, ne sont pas colorables par les techniques usuelles. Les premières apparaissent en général à une des extrémités, simulant des spores, mais ne présentant pas les caractéristiques de ces dernières (fig. 2 et 5). Ce phénomène s'accroît au cours du développement (fig. 3 *a* et *b*, fig. 4 *a*). Sur la bactérie vivante, ces granulations apparaissent très réfringentes, le plus souvent sphériques, se suivant ou s'intercalant les unes entre les autres, en nombre indéterminé.

On observe concurremment que certaines cellules se distendent et paraissent ainsi plus larges (fig. 6). Les granules que ces dernières contiennent sont volumineux, sphériques ou allongés (fig. 4 *b* et fig. 7); la bactérie entière perd parfois sa colorabilité (fig. 8 *a*) sans que les granules y soient distincts; dans ce cas, ils sont probablement fusionnés ou non différenciés; on peut observer une différenciation ultérieure par étranglements de la bactérie incolore, processus qui rappelle beaucoup la formation des conidies de champignons (fig. 8 *b*). Les corpuscules intracellulaires sont, en général, mis en liberté, se séparant ainsi de la bactérie qui leur a donné naissance, apparemment réduite dès lors à sa seule membrane externe. Nous avons pu observer sur le matériel vivant qu'ils sortent latéralement de la cellule. Ces granules libérés peuvent être isolés ou groupés (fig. 7 et fig. 8). Par les colorants usuels il n'est pas possible de déceler leur nature. Ils ne sont pas acido-résistants, ne donnent ni la réaction du glycogène ni celle des graisses; on ne peut donc les considérer comme des réserves nutritives.

Si on les introduit sur un milieu de culture neuf, on constate au bout de 6-12 heures l'apparition de formes bac-

tériennes normales (fig. 9 et 10). Les corpuscules ont donné naissance aux éléments bacillaires typiques de l'espèce. Il faut donc les considérer comme des organes de reproduction, et suivant leur mode de formation (en grand nombre à l'intérieur d'une cellule), on les nommera d'après Löhnis: *gonidies*. Il en est de très petites qui produiront des éléments en rapport avec leurs dimensions (fig. 10). Les plus grosses « germent » parfois en deux ou trois points de leur périphérie (fig. 9).

Les gonidies ne sont pas les seuls éléments reproducteurs de cette espèce bactérienne. En effet, dans certaines cultures âgées de quelques jours, on voit apparaître à l'extrémité des bactéries, des *spores* colorables par la fuchsine de Ziehl à chaud et acido-résistantes (fig. 11). Un même élément bactérien peut produire une spore à chaque extrémité, phénomène exceptionnel, observé sur *B. Bütschlii*, par Schaudinn. Elles sont mises en liberté (fig. 12 a) et germent en donnant des bactéries normales (éléments fortement colorés, fig. 12 b).

D'autre part, il n'est pas rare d'observer dans des cultures âgées de plusieurs semaines, des *formes involutives géantes*. Leurs dimensions sont 10-100 fois supérieures à celles des formes jeunes (fig. 19). Elles paraissent vides, réduites à la seule membrane externe et à quelques granulations chromatiques. Observées sur le matériel vivant, elles sont moins réfringentes que les éléments jeunes; le rouge neutre colore vitalemment l'ectoplasme de toutes les formes observées, jeunes ou âgées, et on peut constater particulièrement bien, à l'aide de ce réactif, que les formes involutives sont fréquemment tordues ou pliées sur elles-mêmes. Bien que morphologiquement modifiées, ces formes géantes sont vivantes. Quelques heures déjà après repiquage sur milieu nutritif neuf, les éléments reprennent leur réfringence normale et, après fixation, leur colorabilité (fig. 20). D'après ce que nous avons observé sur les cellules vivantes ou fixées, il semble que la matière chromatique apparaisse d'abord le long de la membrane (fig. 23 b), puis s'étende peu à peu jusqu'à remplir complètement les formes involutives. Celles-ci tendent à reprendre la forme normale; elles se segmentent. Ce phénomène de segmentation ou *morcellement* s'observe sur les formes minces, filamenteuses, et sur les éléments volumineux par étranglements de la matière protoplasmique (fig. 21 et 23 a). Il n'est pas limité aux formes involutives seulement; on l'observe dans des cultures de tous âges: parfois, quoique rarement, dans les colonies jeunes (fig. 13); plus souvent dans les cultures évoluées, sur les formes colorables (fig. 14, 15, 16) ou,

au contraire, sur celles qui ont perdu leur colorabilité (fig. 17). Ces segments s'individualisent (fig. 22). Sur milieu nutritif neuf, ils ne tardent pas à donner naissance à des formes bactériennes normales. Cette transformation s'effectue parfois en moins de 12 heures. Les formes morcelées (fig. 22) se résolvent en gonidies (fig. 23 c), qui reproduisent les bactéries normales (fig. 24); celles-ci prennent peu à peu la forme allongée typique de l'espèce.

Enfin, nous avons observé, dans une colonie déjà partiellement transformée en gonidies, quelques cellules contenant en leur centre deux *amas de chromatine* (fig. 25). Sur milieu neuf, chacun d'eux donne une bactérie normale (fig. 26).

Secteurs.

Il n'est pas rare d'observer des secteurs dans les colonies; c'est sous cette forme qu'apparaissent parfois des bactéries sporulées dans une souche qui ne présentait que des gonidies, ou inversement.

Nous avons trouvé, en particulier, à plusieurs semaines de distance, dans deux cultures que séparaient de nombreux repiquages, la même forme de secteur, en pétales de fleur, très nettement délimité. Le secteur, qui occupait le centre de la culture, était composé d'éléments très évolués, presque tous transformés en amas de gonidies. Le bord de la culture, extérieur au secteur, ne comprenait que des éléments filiformes, stabilisés sans avoir évolué. Repiqué sur milieu neuf, le secteur a donné une colonie normale, à stries concentriques.

En résumé, nous avons observé chez cette bactérie trois types d'éléments reproducteurs: gonidies, spores, amas de chromatine.

Les *gonidies* se forment en grand nombre au sein de la bactérie et ne sont colorables par aucune des techniques usuelles (couleur d'aniline, à froid ou à chaud, Giemsa, hématoxyline, coloration vitale au rouge neutre). La formation des gonidies peut être précédée d'un morcellement de la cellule bactérienne, qui s'observe en particulier sur les formes involutives géantes.

Les *spores* prennent naissance au nombre d'une ou deux aux extrémités de la bactérie. Elles sont acido-résistantes et peuvent être, par ce caractère, assimilées aux spores normales des bactéries sporulées.

Les *amas de chromatine*, comme l'indique leur dénomi-

nation, sont aisément colorables, à froid, par les colorants d'aniline.

L'apparition de ces éléments reproducteurs est déterminée par des facteurs externes et des facteurs intracellulaires. En effet, si l'on repique toutes les 24 heures une culture jeune, on peut maintenir la forme bâtonnet (fig. 1). C'est le vieillissement de la colonie, provoqué, comme on l'admet généralement, par l'épuisement du milieu de culture et l'accumulation des substances de déchet, qui détermine la production des gonidies, des spores, des formes d'involution. Tout se passe comme si les facteurs extérieurs que nous venons de mentionner mettaient en œuvre ou déclenchaient l'action de facteurs internes déterminant l'apparition de formes involutives ou reproductives caractéristiques de la bactérie étudiée.

Il ne nous a pas été possible, d'après les observations faites, de déterminer pourquoi telle colonie se reproduit par spores, telle autre par gonidies, pourquoi certaine partie de culture n'évolue pas (p. 5), d'autres au contraire affectent des formes involutives, cela sur un milieu de culture de même composition chimique. Toutes les cultures ne sont pas homogènes. Dans une colonie dont les bactéries se transforment presque toutes en gonidies, peut apparaître au cours du développement un secteur constitué par des éléments sporulés ou de petites pustules composées de formes involutives (fig. 18b). Des bactéries sporulées, repiquées sur milieu neuf, ne donnent pas nécessairement une colonie sporulée. On ne peut donc parler de souche sporulée ou de souche à gonidies dont les caractères seraient immuablement fixés. Là encore, il y a probablement action combinée de facteurs internes et externes.

Outre les problèmes d'ordre biologique qui viennent d'être mentionnés, l'étude de cette bactérie pose de nombreuses questions cytologiques relatives au rôle respectif de la membrane externe et du protoplasme, aux modifications physico-chimiques qui accompagnent la formation des gonidies, celle des formes involutives géantes, les phénomènes de segmentation. Des techniques très fines permettront peut-être d'éclaircir de nombreux points obscurs; nous nous sommes bornée à observer et à relater des faits sans chercher pour l'instant à préciser leur mécanisme.

La bactérie décrite correspond par certains de ses caractères morphologiques (éléments piriformes fig. 6, 8 c, 16) au *B. danicus* LÖHNIS et PILLAI, mais en diffère par les caractères des cultures; de plus, les auteurs qui ont décrit le *B. danicus*

n'ont pas parlé de son polymorphisme. Ses analogies morphologiques avec les Azotobacters (fig. 24), sa faculté de vivre en milieu non azoté, la font classer dans le grand groupe des bactéries fixatrices d'azote libre, dont la biologie et la systématique sont encore insuffisamment précisées pour qu'une nouvelle dénomination d'espèce apporte une contribution utile à leur étude.

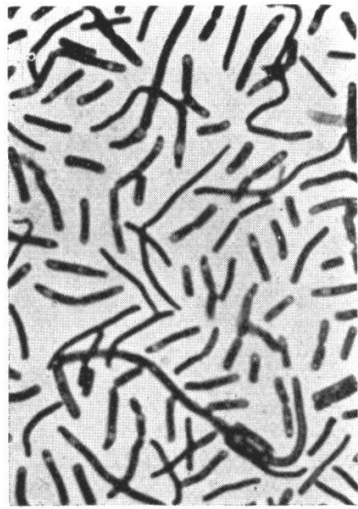
Service de Bactériologie.
Station fédérale d'essais viticoles.
Lausanne.

Table des illustrations.

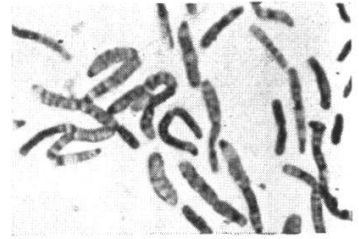
1. Culture jeune (2-6 heures).
2. Culture de 6-12 heures. Ebauche des gonidies.
- 3 *a* et 3 *b*. Culture de 24-48 heures. Formation des gonidies.
- 4 *a* et 4 *b*. Gonidies formées au sein des bactéries.
5. Même stade que 2. Souche contenant des éléments bactériens allongés.
6. Éléments allongés distendus.
7. Gonidies de diverses dimensions.
- 8 *a*. Bactérie ayant perdu sa colorabilité; gonidies non différenciées.
- 8 *b*. Différenciation ultérieure des gonidies.
- 8 *c*. Amas de gonidies hors des cellules bactériennes.
9. Germination des gonidies (sur gélatine).
10. Germination de petites gonidies.
11. Spores terminales colorées par la fuchsine de Ziehl à chaud, acido-résistantes.
- 12 *a*. Mise en liberté d'une spore (coloration normale, spore non colorée).
- 12 *b*. Germination des spores.
13. Morcellement de quelques éléments bactériens d'une culture jeune.
14. Idem.
15. Idem.
16. Morcellement d'éléments bactériens plus âgés.
17. Morcellement des éléments incolores (culture de 15 jours).
- 18 *a*. Colonie présentant des secteurs.
- 18 *b*. Fragment de colonie présentant des pustules.
19. Formes involutives d'une culture de 4 mois.
20. Evolution des formes involutives repiquées sur milieu nutritif neuf.
21. Morcellement d'un élément bactérien.
22. Les segments formés (fig. 17) s'individualisent.
- 23 *a*. Morcellement d'un élément involutif après repiquage (dessin).
- 23 *b*. Une bande de protoplasme colorable apparaît le long de la membrane.
- 23 *c*. Transformation en gonidies des éléments représentés fig. 22.
24. Germination des gonidies en éléments bactériens normaux.
25. Amas de chromatine au centre d'éléments bactériens.
26. Germination des amas de chromatine en éléments bactériens normaux.



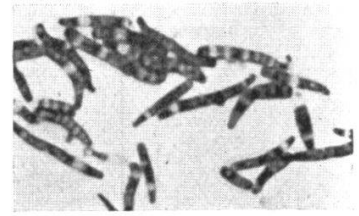
1



2



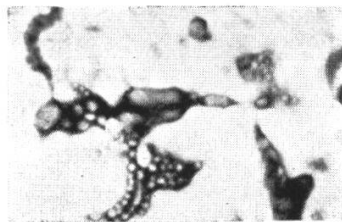
3a



3b



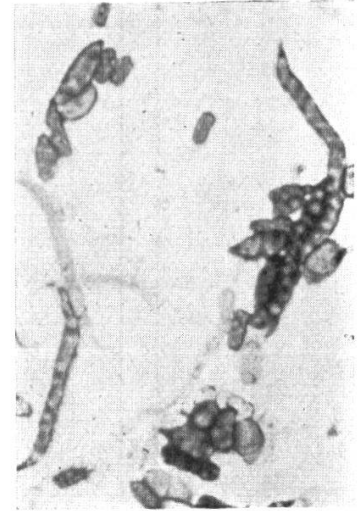
4a



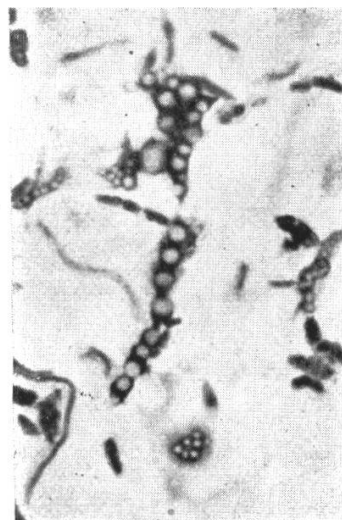
4b



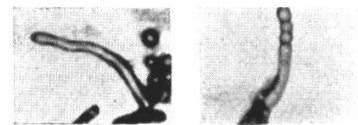
5



6



7



8a



8b



8c



9



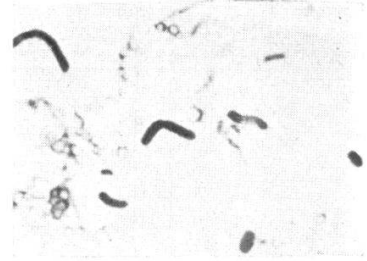
10



11



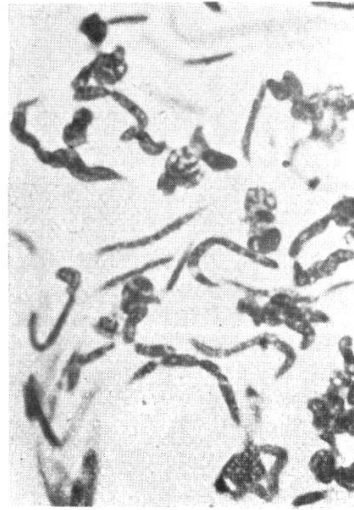
12 a



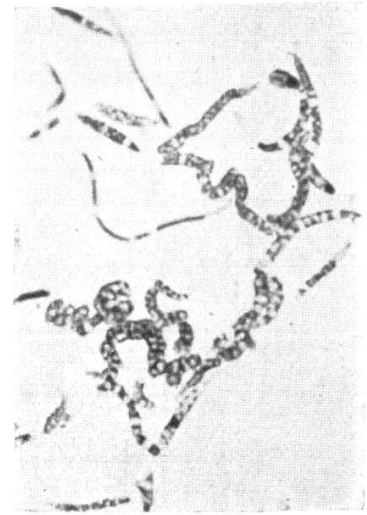
12 b



13



14



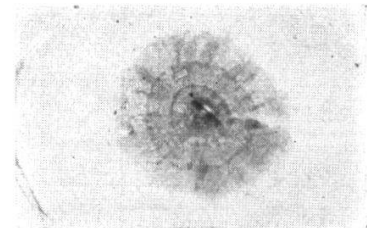
15



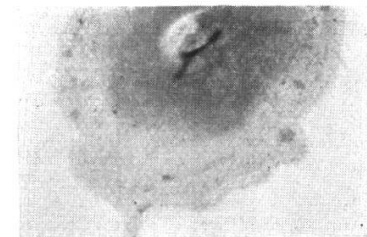
16



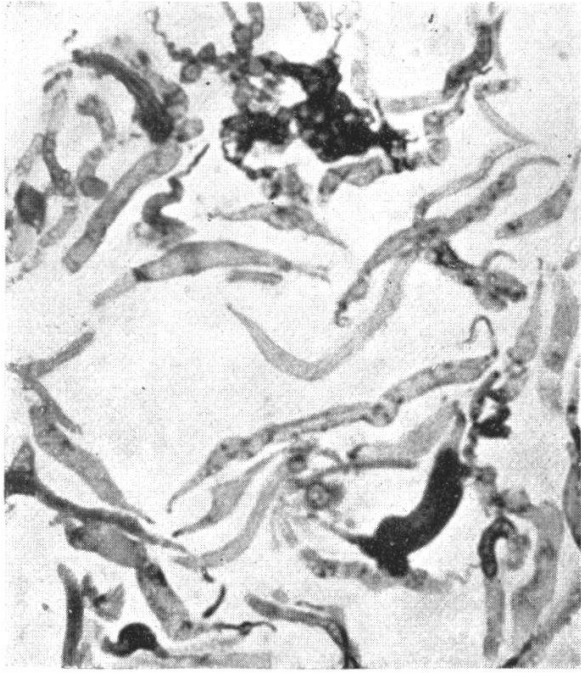
17



18 a



18 b



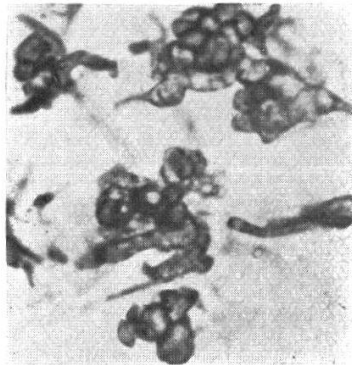
19



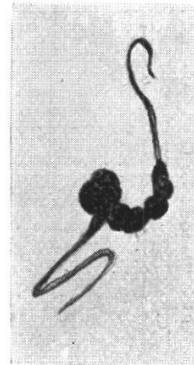
20



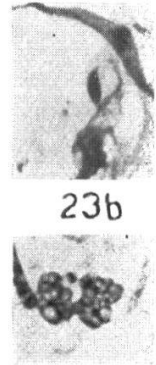
21



22



23a

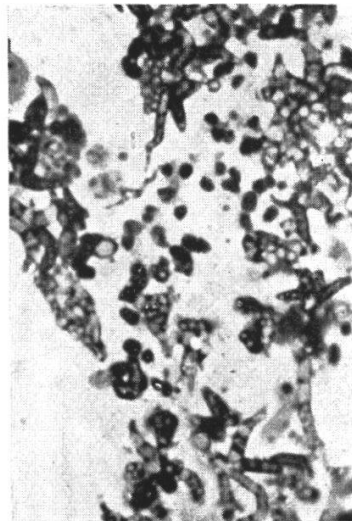


23b

23c



24



25



26