

# LES BACTÉRIES SULFO-OXYDANTES DÉNITRIFIANTES DE LA MER NOIRE

par Mircea ZARMA

L'étude de la morpho-physiologie et de la taxonomie des bactéries appartenant aux biocénoses marines, est l'un des buts actuels de la microbiologie marine (11).

Bien qu'il n'existe pas, jusqu'à présent, une telle étude des bactéries sulfo-oxydantes dénitrifiantes de la Mer noire, les données de la littérature concernant les autres aspects, permettent d'entrevoir qu'elles ont une grande importance dans le processus de dénitrification qui se produit dans cette mer.

Les connaissances sur la morphologie et la physiologie des bactéries appartenant à l'espèce *Sulfomonas denitrificans* TJULPANOVA-MOSSEVITCH sont contradictoires. Le but de notre travail est d'établir les propriétés des bactéries sulfo-oxydantes dénitrifiantes de la Mer noire, qui pourront être utilisées en taxonomie pour la classification des différentes bactéries décrites sous le nom de *Sulfomonas denitrificans*.

Nous donnons également quelques informations concernant la répartition quantitative des bactéries décrites, comparativement aux données de la littérature.

## Historique.

BEIJERINCK (2) a découvert le premier *Sulfomonas denitrificans* dans la mer. ISSATCHENKO (5) le retrouvait dans l'Océan arctique. MALIANTZ et LANGÉ-POZDEEVA (cités par OSNITZKAIA (15)) l'ont isolé de la Mer caspienne. En effectuant la numération de ces bactéries dans les sédiments de l'Océan pacifique, KRISS (11, 13) obtient les chiffres de 10-10 000 par g de vase. Les valeurs obtenues par ZOËLL au voisinage de la côte californienne sont plus élevées.

ISSATCHENKO (6) a étudié seulement les bactéries dénitrifiantes de la Mer noire, en négligeant les sulfo-oxydantes dénitrifiantes, qui ont été signalées, dans cette mer, par KOPP (8). KRISS et ROUKINA (14) ont obtenu des cultures de ces bactéries à partir de la vase de la Mer noire jusqu'à la dilution de  $10^{-7}$ . Ils n'ont pas effectué l'étude des bactéries des cultures obtenues.

Dans ce qui suit, nous décrivons deux souches (1) pures, isolées de la Mer noire, en comparant leurs propriétés à celles trouvées dans la littérature (2).

## Méthode.

Afin d'obtenir des cultures d'enrichissement, on a employé le milieu de Beijerink (cité par RODINA, 17), avec la composition suivante :

|                        |         |                  |       |
|------------------------|---------|------------------|-------|
| Eau du robinet .....   | 1000 ml | $K_2HPO_4$ ..... | 0,2 g |
| Soufre précipité ..... | 100 g   | $NaHCO_3$ .....  | 0,2 g |
| $KNO_3$ .....          | 0,5 g   | $CaCO_3$ .....   | 20,0g |

(1) La souche n° 1 a été isolée à partir de la vase de la Mer noire, recueillie le 13 août 1958 à Agigea; la souche n° 2 de la vase recueillie le 30 septembre 1956 à 43°49' lat., 30°18'5" long.; profondeur de l'eau - 110 m.

(2) Il n'a pas été possible de consulter en original : BAALSRUD K.S. — *Thiobacillus denitrificans*. Arch. f. Mikrob., 20 : 34-65.

Le milieu préparé avec l'eau du robinet s'est montré supérieur à celui préparé à l'eau de mer ou au sel marin. Ce milieu a été réparti dans des éprouvettes et recouvert d'huile de vaseline. Les éprouvettes ont été inoculées avec une suspension de vase marine, après avoir éliminé l'oxygène par ébullition pendant 30 minutes (en les laissant refroidir avant l'ensemencement). Température d'incubation + 33°C. Après 24 à 48 heures d'incubation, on observait des petites bulles de gaz et une très faible modification de la transparence du milieu. Afin d'obtenir des colonies isolées, nous avons dispersé une goutte de la culture d'enrichissement à la surface du milieu de Lieske, réparti dans des boîtes de Pétri. Le milieu de Lieske employé avait la composition suivante :

|                                                                       |         |                         |        |
|-----------------------------------------------------------------------|---------|-------------------------|--------|
| Eau du robinet .....                                                  | 1000 ml | MgCl <sub>2</sub> ..... | 0,1 g  |
| Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 5H <sub>2</sub> O ..... | 5,0 g   | CaCP <sub>2</sub> ..... | traces |
| KNO <sub>3</sub> .....                                                | 5,0 g   | FeCl <sub>3</sub> ..... | traces |
| NaHCO <sub>3</sub> .....                                              | 1,0 g   | Agar-agar.....          | 15,0 g |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....                                 | 0,2 g   |                         |        |

Les boîtes de Pétri ont été incubées à l'abri de l'oxygène dans le vide, dans l'hypothèse que les bactéries sulfo-oxydantes dénitrifiantes sont des anaérobies stricts. Les colonies isolées ont été repiquées dans le milieu que nous avons utilisé à l'enrichissement, en obtenant de cette manière des cultures pures. Le milieuensemencé conservant sa clarté pendant le développement des cultures, le seul indicateur de la multiplication des bactéries demeurait le contrôle microscopique.

L'abaissement du titre de thiosulfate d'un milieu minéral de culture auquel il avait ajouté différents glucides, a fait conclure TRAUTWEIN (19) sur la possibilité pour les bactéries de l'espèce *Sulfomonas denitrificans* d'utiliser des glucides comme unique source de carbone, pendant leur croissance. Pour démontrer que les glucides peuvent être utilisés non seulement comme matériel plastique, mais qu'ils sont aussi des donneurs d'hydrogène, nous avons utilisé le milieu de Lieske non agarisé dépourvu de thiosulfate, de soufre ou de ses combinaisons, pouvant servir de donateurs d'hydrogène. En ajoutant à ce milieu des glucides, les alcools respectifs et des sels organiques à la concentration de 6 ‰, nous avons poursuivi le développement ou le manque de développement de la culture après l'ensemencement des bactéries étudiées.

La numération des bactéries sulfo-oxydantes dénitrifiantes a été effectuée par la méthode des dilutions successives dans le milieu de Beijerinck réparti dans des éprouvettes remplies aux 3/4. On avait considéré comme positifs les tubes présentant des bulles de gaz et dans lesquels les réactions des nitrates et des nitrites restaient négatives. Le M.P.N. (le nombre le plus probable) a été calculé en employant le tableau par trois séries à trois dilutions, indiqué par un ouvrage de WOODWARD (21).

## Morphologie.

### a) Aspect microscopique.

BERGEY (3) et KRASSILNIKOV (10) décrivent un seul cil à *Sulfomonas denitrificans*. TRAUTWEIN (19, 20) et PRÉVOT (16) le considèrent péritriche, à 6-8 cils selon TRAUTWEIN, à 5-8 cils selon PRÉVOT.

Nos bactéries sont très mobiles, ayant un seul cil polaire d'environ 4 μ de longueur et 0,06 μ de diamètre (fig. 1). Elles ont l'aspect de bâtonnets Gram-négatifs, droits aux extrémités arrondies, ayant les dimensions approximatives de 0,8 - 1,3 × 0,5 μ.

### b) Morphologie des cultures.

*Milieux solides.* Les colonies obtenues sur le milieu de Lieske sont rondes, faiblement convexes, à contour régulier, très petites, au diamètre d'environ 1 mm, incolores, transparentes

homogènes, luisantes, ayant l'aspect de gouttes fines de rosée, ressemblant aux colonies du type « glossi » du streptocoque hémolytique. On observe aussi des colonies ressemblant à celles du type « matt » du même streptocoque. Les bactéries d'une colonie d'un type peuvent engendrer, au repiquage, des colonies de l'autre type.

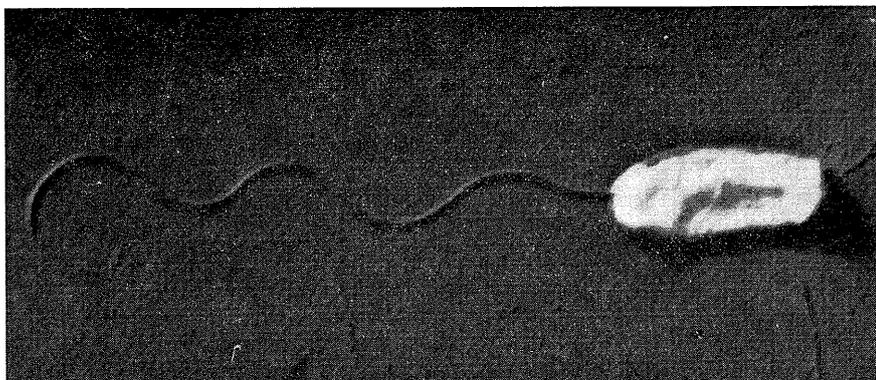


FIG. 1. — Bactérie sulfo-oxydante dénitrifiante, isolée de la Mer noire ( $\times 21\ 000$ ). Photographie électron-microscopique, réalisée dans le laboratoire du microscope électronique de l'Institut de Microbiologie, Parasitologie et Epidémiologie « Dr. I. Cantacuzino » de Bucarest.

Les cultures sont plus abondantes lorsqu'on les obtient en utilisant le bouillon gélosé en tubes inclinés. Notre première souche donne des cultures incolores, transparentes, luisantes, à surface mamelonnée, au contour finement ondulé. La seconde se présente sous forme de cultures blanc-sale, translucides, luisantes, à surface finement ridée, à contour plus fortement ondulé.

Dans le bouillon gélosé, réparti dans des tubes Weinberg, on observe de rares colonies, ouatées, incolores, au diamètre de 7 mm approximativement dans la partie supérieure du milieu. A la surface, apparaît une pellicule mince. L'apport du  $\text{KNO}_3$  à la concentration de 0,1 % permet la croissance d'un nombre plus élevé de ces colonies, plus compactes, dans toute la profondeur du milieu. On observe également un dégagement de gaz.

A la surface du milieu de Veillon se forme une pellicule et la croissance s'arrête à environ 5 mm en profondeur, dans l'absence des nitrates.

La gélatine n'est pas liquéfiée; on n'a obtenu des cultures qu'à sa surface.

*Milieux liquides.* L'aspect des cultures dans le milieu liquide de Beijerinck a été décrit au paragraphe des méthodes. L'aspect est identique à celui qu'on observe dans le milieu de Lieske.

L'eau peptonée devient trouble, une pellicule épaisse apparaissant à sa surface.

Le bouillon glucosé à 1 % devient uniformément trouble. Un anneau détachable à l'agitation se forme à la surface, au fond du tube apparaît un dépôt abondant, floconneux.

## Physiologie.

### a) L'accepteur d'hydrogène et la capacité de dénitrifier.

Selon BEIJERINCK (2), *Sulfomonas denitrificans* possède la propriété d'oxyder les combinaisons du soufre à l'abri de l'oxygène moléculaire, en utilisant celui des nitrates. Ainsi que LIESKE (cité par TRAUTWEIN, (19), FEODOROV (4) considère cette bactérie strictement anaérobie. TRAUTWEIN (19), BAALSrud (1), BERGEY (3) et KRASSILNIKOV (10) la considèrent facultativement anaérobie. PRÉVOT (16) décrit *Sulfomonas denitrificans* à la fin de sa clef de détermination des bactéries anaérobies, en mentionnant les diverses opinions quant à son type de respiration,

Les deux souches, étudiées par nous, ont produit des cultures aérobies; ce n'est qu'en présence des nitrates qu'elles ont donné des cultures anaérobies, aussi bien dans des milieux minéraux qu'organiques. Un troublement du bouillon recouvert d'huile de vaseline, réparti en tubes, a été observé seulement dans la partie superficielle, à l'abri des nitrates. Les bactéries n'ont pas présenté une multiplication anaérobie dans les milieux de Beijerinck et de Lieske, lorsqu'on a remplacé les nitrates par les sels d'ammoniaque. Dans tous ces cas, le développement des bactéries dans des conditions anaérobies a été conditionné par l'apport des nitrates ou des nitrites. Dans ce cas, le bouillon devenait trouble et on observait à sa surface une écume due aux bulles de gaz.

La conclusion est que l'oxygène atmosphérique, de même que celui des nitrates et des nitrites, représente l'accepteur de l'hydrogène de nos souches au cours de leur développement, autotrophique ou hétérotrophique. Les bactéries étudiées sont donc des anaérobies facultatives en présence des nitrates. Les nitrates et les nitrites du milieu ne peuvent plus être mis en évidence par les réactions spécifiques, étant décomposés par l'azote moléculaire qui s'y dégage sous forme de bulles de gaz. Nous précisons que la dénitrification se produit par voie anaérobie, dans des conditions autotrophiques, en présence du soufre ou de ses combinaisons réduites, de même que dans des conditions hétérotrophiques, indépendamment de la présence ou du manque du soufre ou de ses combinaisons dans les milieux et indépendamment du fait que les conditions d'hétérotrophie sont obtenues à l'aide de la matière protéique, des glucides, ou par l'ensemble de ces substances.

#### b) *Les donneurs de l'hydrogène.*

D'après BEIJERINCK, *Sulfomonas denitrificans* possède la propriété d'oxyder le soufre et ses combinaisons de manière autotrophique. BEIJERINCK a signalé que cette bactérie peut se multiplier aussi hétérotrophiquement si le bouillon gélatiné est dilué deux fois. C'est-à-dire que, selon cet auteur, même la matière protéique peut servir en certaine mesure comme donneur de l'hydrogène, ainsi que le soufre et ses combinaisons. LIESKE (cité par BERGEY (3)) considère que la *Sulfomonas denitrificans* a une vie strictement autotrophique. TJULPANOVA - MOSSEVITCH (cité par BERGEY (3)) lui attribue une vie facultativement autotrophique.

Les bactéries de nos souches ont produit des cultures dans des conditions autotrophiques et hétérotrophiques aux dépens des protides, des glucides, des alcools et des sels organiques, aussi bien aérobiquement qu'anaérobiquement. Les cultures obtenues à l'aide des milieux organiques étaient plus abondantes que celles obtenues dans les milieux minéraux. Les donneurs d'hydrogène (accepteurs de l'oxygène) dans des conditions autotrophiques se sont avérés être le soufre, les sulfites, les hyposulfites, les dithionates et les polythionates. L'hydrogène sulfuré qui, selon TRAUTWEIN (20) peut être oxydé par *Sulfomonas denitrificans* n'a pu être utilisé comme donneur d'hydrogène par nos souches. De même que les bactéries de TRAUTWEIN (19) nos souches ont utilisé comme donneur de l'hydrogène et comme source de carbone à valeur plastique les substances suivantes : le glucose, le levulose, le maltose, l'éthanol, le mannitol et le glycérol. Par différence des bactéries de TRAUTWEIN nos bactéries ont utilisé : le galactose, le saccharose, le lactose et le tartrate de potassium, utilisant en plus : le tréhalose (faiblement), l'amidon, le glycogène, la pectine, la dextrine et le lactate de calcium. Elles n'ont pas utilisé : l'arabinose, le xylose, l'adonose, le rhamnose, le mannose, le mélibiose, le raffinose, le mélésitose, le sorbitol, le dulcitol et l'inositol. La peptone a été utilisée comme seule source plastique de carbone et seul donneur de l'hydrogène.

Il s'en suit, comme conclusion, que les donneurs d'hydrogène des souches étudiées sont représentés, en conditions d'aérobiose et d'anaérobiose, par le soufre et ses combinaisons, les protides, les glucides, les alcools et les acides organiques, signalés plus haut. Les substances organiques représentent des donneurs d'hydrogène de valeur plus élevée que le soufre et ses combinaisons et, par conséquent, nous devons considérer les souches examinées comme étant en premier lieu hétérotrophes et en second lieu autotrophes.

c) *La source de carbone.*

La source de carbone des bactéries étudiées est représentées par :  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et, comme nous l'avons déjà montré, par le carbone organique, glucidique, protidique et par celui des alcools et des acides organiques.

d) *La source de l'azote.*

Les bactéries étudiées ont utilisé les formes suivantes de l'azote :  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$  et l'azote protéique.

Elles donnent la forte alcalinisation du lait tournesolé, une pellicule se formant à sa surface. La première souche le décolore complètement après 72 heures à  $33^\circ\text{C}$ . La seconde, le décolore faiblement le 5<sup>e</sup> jour après l'ensemencement. Par différence des bactéries décrites par TRAUTWEIN (20), nos souches ne liquéfient point la gélatine. Elles ne digèrent pas le sérum coagulé, le blanc d'œuf coagulé, ni la viande. Elles ne produisent que des traces d'hydrogène sulfuré aux dépens des protéines. L'indol n'est pas produit. Au contraire des bactéries de TRAUTWEIN (20), nos bactéries produisent de l'ammoniaque en plus grande quantité.

e) *La résistance à la chaleur.*

Nos bactéries ne résistaient pas plus de 5 à 10 minutes à  $55^\circ\text{C}$ , celles de TRAUTWEIN — 2 à 5 minutes à la même température.

### Considérations sur la phylogénie et sur la taxonomie.

A la lumière des conceptions modernes (SOROKIN, 18), nous considérons les bactéries autotrophes comme étant les plus évoluées des bactéries, tirant leur origine des hétérotrophes. *Sulfomonas* y compris, nos bactéries doivent être considérées comme ayant leur origine dans le genre *Pseudomonas*, le genre le plus évolué des Eubactériales. L'évolution consiste dans l'apparition de la faculté de vivre dans des conditions autotrophiques, c'est-à-dire dans l'apparition chez *Sulfomonas* de la propriété d'oxyder le soufre et quelques-unes de ses combinaisons. Nos souches doivent être classées comme des bactéries qui font le passage des bactéries hétérotrophes du genre *Pseudomonas*, probablement de l'espèce *Pseudomonas denitrificans* BERGEY *et al.* ou de l'une ressemblante, vivante ou fossile, vers les bactéries autotrophes strictes et aérobies du genre *Sulfomonas*. Si nous faisons abstraction de la capacité d'oxyder le soufre et ses combinaisons, nos souches représentent, par leurs autres propriétés, un *Pseudomonas denitrificans*. Des études sérologiques et biochimiques, ainsi que des expériences de variabilité dirigée et des recherches bactériophagiques pourraient préciser les relations entre *Sulfomonas denitrificans* et *Pseudomonas denitrificans*.

En ce qui concerne le genre *Sulfomonas*, ISSATCHENKO (7) écrivait, en 1928 : « La nécessité de l'étude de la taxonomie de ce groupe d'organismes *sui generis* auxquelles les chercheurs attribuent des propriétés diamétralement opposées est évidente ». Il cite TRAUTWEIN qui, malgré son étude détaillée de ces bactéries, évite de les nommer, en mentionnant qu'il est encore nécessaire de faire des études comparatives dans ce but. Même à présent la connaissance de ces bactéries n'est pas plus précise et, par conséquent, elle est encore insuffisante pour différencier les diverses bactéries qui probablement ont été décrites sous le nom de *Sulfomonas denitrificans*. Nous n'avons donc pas le droit de nommer nos souches comme une nouvelle espèce, quoiqu'il existe des différences importantes entre ces bactéries et celles décrites dans la littérature.

### Quelques données sur la répartition numérique.

Les déterminations effectuées et les résultats obtenus sont inscrits dans le tableau I. Nous sommes loin de considérer que ces trois déterminations peuvent caractériser la répartition des bactéries sulfo-oxydantes dénitrifiantes dans les sédiments de la Mer noire.

Leur nombre est presque identique aux valeurs de KRISS et ROUKINA (11, 13), obtenues en analysant la vase de la Mer d'Ochotsk, au voisinage de l'Océan pacifique, et plus petit que celui des mêmes microbiologistes (14) pour la vase des grandes profondeurs de la Mer noire. Cette comparaison est approximative à cause des différentes méthodes employées. Nous mentionnons que les auteurs cités n'ont pas utilisé — ainsi que nous l'avons fait — dans leurs calculs le système M.P.N. Nos résultats sont rapportés à 1 cm<sup>3</sup> de vase, les autres au gramme de sédiment.

| N° échantillon                                   |                  | 1                |   |   | 2           |   |   | 3              |   |   |
|--------------------------------------------------|------------------|------------------|---|---|-------------|---|---|----------------|---|---|
| Station d'origine                                |                  | Soulina          |   |   | Mamaïa      |   |   | Agigea         |   |   |
| Nature de l'échantillon                          |                  | Vase sablonneuse |   |   | Sable       |   |   | Vase à Zostera |   |   |
| Date du prélèvement et de l'ensemencement        |                  | 5.VI.1959        |   |   | 10.VII.1959 |   |   | 11.VII.1959    |   |   |
| Répétitions                                      |                  | 1                | 2 | 3 | 1           | 2 | 3 | 1              | 2 | 3 |
| Dilutions<br>ensemencées<br>(1 cm <sup>3</sup> ) | 10 <sup>-1</sup> | +                | + | + | +           | — | + | +              | + | + |
|                                                  | 10 <sup>-2</sup> | +                | + | + | —           | + | — | +              | + | — |
|                                                  | 10 <sup>-3</sup> | +                | + | + | —           | — | — | +              | — | — |
|                                                  | 10 <sup>-4</sup> | —                | — | — | —           | — | — | —              | — | — |
| M.P.N. bactéries à 1 cm <sup>3</sup> sédiment    |                  | 2400             |   |   | 15          |   |   | 150            |   |   |

TABLE I. — Répartition numérique des bactéries sulfo-oxydantes dénitrifiantes dans les sédiments de la Mer noire, au voisinage de la côte dobroudjéenne.

### Considérations sur l'importance de nos bactéries dans le circuit de la matière et dans la productivité biologique de la Mer noire.

Ces bactéries ont un double rôle dans le circuit de la matière; l'un dans le circuit du soufre, l'autre dans celui de l'azote. Nous ne pouvons pas attribuer aux sulfo-oxydants dénitrifiants de la Mer noire le rôle favorable d'oxyder l'hydrogène sulfuré nocif pour le développement de la vie, parce que nous avons constaté que nos souches, par différence de celles de TRAUTWEIN, ne sont pas douées d'une telle propriété. Elles oxydent seulement les autres combinaisons réduites du soufre de moindre importance pour la productivité biologique de la Mer noire. Cette productivité est négativement influencée par l'autre rôle de ces bactéries, par leur capacité dénitrifiante. Basée sur les considérations suivantes, nous supposons que l'activité dénitrifiante de ces bactéries cause la perte de la plus grande quantité d'azote, qui se perd à l'état moléculaire dans la Mer noire.

1°) Nous avons isolé plus aisément ces dénitrifiants que les dénitrifiants hétérotrophes, parce que les premiers sont probablement plus nombreux que les autres. Ce fait est confirmé par les recherches de KRISS et ROUKINA (14) effectuées dans les sédiments de la Mer noire.

2<sup>o</sup>) En ce qui concerne les bactéries capables de détruire la matière organique directement jusqu'à l'azote moléculaire, KRISS et ROUKINA (14) ne les avaient pas signalées jusqu'à 200 m, tandis que les sulfo-oxydants dénitrifiants étaient présents.

KOUSNÉTZOV (9) affirme que 40 % de l'azote gazeux, qui se dégage dans les lacs, est le résultat de la décomposition des protéines par les bactéries anaérobies. Cette probabilité de la perte de l'azote n'est pas considérée comme ayant la même ampleur pour la Mer noire par KRISS et ROUKINA (13), qui y trouvent un grand nombre de bactéries dénitrifiantes actives (dans les sédiments). Nous y ajoutons notre observation sur la rareté des anaérobies dans la Mer noire.

3<sup>o</sup>) Quoique le processus de la dénitrification autotrophe s'effectue plus lentement que la dénitrification hétérotrophe dans le milieu de Giltail, KRISS et ROUKINA (14) mentionnent qu'il est intense. Nous ajoutons les faits démontrés par nos souches, soit qu'elles peuvent se développer et dénitrifier plus énergiquement dans des conditions hétérotrophes, tout comme les autres dénitrifiants authentiques.

4<sup>o</sup>) La dénitrification indirecte réclame pour se produire un pH acide. Probablement que cette modalité de perte de l'azote est très réduite ou inexistante dans le milieu marin à pH alcalin.

En ce qui concerne l'influence des bactéries étudiées dans le circuit de l'azote, nous ajoutons qu'elles doivent être considérées non seulement dans l'étape de la dénitrification, mais aussi dans celle de l'ammonification, étant douées, comme nous l'avons déjà vu, d'une forte capacité ammonifiante.

## CONCLUSIONS

Les bactéries des deux souches bactériennes sulfo-oxydantes dénitrifiantes isolées par nous des sédiments de la Mer noire, au voisinage de la côte dobroudjéenne présentent un cil polaire. Elles produisent sur le milieu de Lieske gélosé deux sortes de colonies ressemblant aux types « glossi » et « matt » du streptocoque hémolytique. La croissance est plus abondante sur des milieux organiques.

L'oxygène atmosphérique, de même que celui des nitrates et des nitrites, représente l'accepteur d'hydrogène de nos souches au cours de leur développement autotrophique, aussi bien qu'hétérotrophique.

Ces bactéries produisent la dénitrification anaérobiquement, dans des conditions autotrophiques en présence du soufre ou de ses combinaisons réduites, à l'exception de l'hydrogène sulfuré, ainsi qu'en conditions hétérotrophes indépendamment de la présence du soufre ou de ses combinaisons dans les milieux et indépendamment du fait que les conditions d'hétérotrophie soient obtenues à l'aide de la matière protéique, de quelques glucides ou par l'ensemble de ces sortes de substances.

Ces substances, de même que les alcools et quelques acides organiques sont des donneurs de l'hydrogène pour les bactéries étudiées.

Elles sont autotrophes facultatives et facultativement anaérobies.

A part les substances mentionnées, elles peuvent également utiliser comme source de carbone :  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , et  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

Les sources de l'azote de nos bactéries sont les protéines,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_3$  et  $\text{NO}_2$ . Elles ne liquéfient pas la gélatine et produisent plus d'ammoniaque.

Nos souches doivent être considérées comme des bactéries qui font le passage des bactéries hétérotrophes du genre *Pseudomonas*, probablement de l'espèce *Pseudomonas denitrificans* BERGEY *et al.*, 1933, vers les bactéries autotrophes strictes et aérobies du genre *Sulfomonas*.

En tenant compte que les connaissances sur les bactéries sulfo-oxydantes dénitrifiantes sont encore insuffisantes pour séparer les différentes bactéries qui ont été décrites sous le nom de *Sulfomonas denitrificans*, nous avons évité de nommer nos souches comme une espèce nouvelle, quoiqu'il existe des différences importantes en ce qui concerne nos bactéries et celles décrites dans la littérature.

Par les numérations de ces bactéries, effectuées sur trois échantillons de sédiment, recueillis près de la côte, nous avons obtenu des valeurs de 15, 150 et 2 400 bactéries/cm<sup>3</sup> de sédiment, valeurs plus petites que celles trouvées par KRISS et ROUKINA dans la vase des grandes profondeurs de la Mer noire.

Nous supposons que l'activité dénitrifiante des bactéries étudiées cause la perte de la plus grande quantité d'azote, qui se perd sous forme moléculaire dans la Mer noire. Ces bactéries représentent donc des éléments doués d'un rôle négatif en ce qui concerne la productivité biologique de cette mer.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1) BREED (R.S.), MURRAY (E.G.D.) et SMITH (N.R.), 1957. — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7-th ed., 912 p., B.
- 2) ISSATCHENKO (B.L.), 1924. — *C.R. Acad. Sci.*, **178** : 2204.
- 3) KOPP (F.I.), 1948. — *Tr. Sev. Biol. St.*, **6** : 298.
- 4) — 1949. — *Tr. Sev. Biol. St.*, **7** : 28.
- 5) KRASSILNIKOV (N.A.), 1949. — *Opredeliteli bakterii i aktinomtsetov*, 830 p., M-L.
- 6) KRISS (A.E.), MARKIENOVITCH (E.M.) et ROUKINA (E.A.), 1954. — *Tr. Sev. Biol. St.*, **8** : 220.
- 7) KRISS (E.A.), ROUKINA (E.A.) et BIRIOUZOVA (V.I.), 1949. — *Tr. Sev. Biol. St.*, **7** : 50.
- 8) MARKIANOVITCH (E.M.), 1954. — *Tr. Sev. Biol. St.*, **8** : 288.
- 9) PREVOT (A.R.), 1957. — *Manuel de classification et de détermination des bactéries anaérobies*, 362 p., P.
- 10) SENEZ (J.), 1949. — *Ann. Inst. Pasteur*, **77** : 512.
- 11) ZARMA (M.), 1957. — *Bull. St. Acad. R.P.R., Sec. Biol. St. Agr. ser. bot.*, **9** : 33.
- 12) — 1959. — *Lucr. ses. st. St. Zool. Mar. « Prof. I. BORCEA »*, *Agigea*, p. 567.
- 13) — 1960. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Rapp. et P.V.*, **15** : 49.