

Etude des hydrogénobactéries dans un petit lac (le Loclat, ou lac de Saint-Blaise)

Autor(en): **Schweizer, Christian / Aragno, Michel**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **98 (1975)**

PDF erstellt am: **16.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-89073>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

ÉTUDE DES HYDROGÉNOBACTÉRIES
DANS UN PETIT LAC,
(LE LOCLAT, OU LAC DE SAINT-BLAISE)
(NOTE PRÉLIMINAIRE)

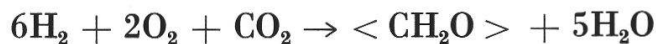
par

CHRISTIAN SCHWEIZER et MICHEL ARAGNO

AVEC 2 FIGURES ET 1 PLANCHE

INTRODUCTION

Les hydrogénobactéries, ou bactéries du gaz tonnant (« Knallgas »), sont capables d'utiliser, en aérobiose, l'hydrogène moléculaire comme source d'énergie et l'anhydride carbonique comme unique source de carbone. Ce sont par conséquent des bactéries chimiolithotrophes, réalisant la synthèse des hydrates de carbone selon l'équation générale suivante :



Ces micro-organismes sont autotrophes facultatifs ; ils peuvent se développer aux dépens d'une grande variété de composés organiques (EBERHARDT 1965).

La septième édition du *Bergey's Manual* (BREED et al. 1957) mentionne 4 espèces d'hydrogénobactéries, toutes rattachées au genre *Hydrogenomonas* Orla-Jensen, 1909. DAVIS et al. (1969) proposent de rejeter ce genre unique et assignent aux genres *Pseudomonas*, *Alcaligenes* et *Paracoccus* les hydrogénobactéries à Gram négatif. Certains groupes de bactéries à Gram positif comprennent des hydrogénobactéries : les Actinomycètes (HIRSCH 1961, AGGAG et SCHLEGEL 1973), les Mycobactéries (LUKINS et FOSTER 1963) et les Corynébactéries (SCHNEIDER et al. 1973, BAUMGARTEN et al. 1974). Les bactéries oxydant l'hydrogène ne constituent donc pas un groupe taxonomique homogène.

L'écologie des bactéries est particulièrement intéressante dans les lacs eutrophes. Ceux-ci sont caractérisés par la disparition de l'oxygène des couches profondes (hypolimnion) lors de la stratification estivale.

Il en résulte la superposition de deux phases : l'une anaérobie où, sous l'effet de micro-organismes, s'accumulent des métabolites organiques et des substances minérales réduites (H_2S , NH_3 , CH_4 , Fe^{+2} , H_2) ; l'autre aérobie, dans laquelle l'activité des micro-organismes est essentiellement respiratoire et oxydative. Par diffusion ou lors du mélange automnal des eaux, les substances accumulées dans l'hypolimnion sont mises en présence d'oxygène. L'énergie chimique produite par leur oxydation sera utilisée pour le développement des bactéries organotrophes (oxydation des métabolites organiques) et chimiolithotrophes (oxydation des substances minérales réduites). Durant la saison froide, dans les lacs holomictiques, toute la colonne d'eau renferme de l'oxygène ; la phase anaérobie est confinée dans le sédiment, à la surface duquel pourront se dérouler les phénomènes d'oxydation précités.

Un lac eutrophe représente donc un milieu favorable *a priori* pour une étude écologique des bactéries chimiolithotrophes, en particulier des bactéries oxydant l'hydrogène. Ceci est confirmé par les auteurs russes (cf. KUZNETSOV 1959) qui ont montré l'importance, dans la dynamique de l'oxygène des lacs eutrophes, de ces bactéries et de celles qui oxydent le méthane. Ils ont établi que, dans la phase anaérobie, la concentration de l'hydrogène est élevée, et qu'il diffuse abondamment dans la phase aérobie. Les conditions nécessaires à la croissance chimiolithotrophe des hydrogénobactéries sont ainsi réalisées. Selon KUZNETSOV (*op. cit.*) la consommation de l'oxygène par les bactéries autotrophes est souvent importante ; elle peut même dépasser, dans certaines conditions, celle due à l'activité respiratoire des autres organismes.

Outre leur importance en hydrobiologie, les hydrogénobactéries présentent un autre intérêt : elles pourraient être utilisées comme source alimentaire, grâce à leur capacité d'utiliser l'énergie de l'hydrogène moléculaire pour la synthèse de matière organique (SCHLEGEL et LAFFERTY 1971). Une meilleure connaissance des espèces présentes dans différents milieux naturels s'impose donc.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour la numération, l'isolement et la culture des hydrogénobactéries, nous avons choisi le milieu proposé par STANIER et *al.* (1971, p. 375). L'incubation se fait dans un mélange de 60% d' H_2 , 30% d'air et 10% de CO_2 .

La technique des cultures sur membrane filtrante a été appliquée à la numération des hydrogénobactéries de l'eau. Des échantillons sont filtrés sur membrane de porosité $0,45\mu$ (Schleicher et Schuell), lesquelles sont ensuite déposées sur le milieu minéral gélosé. L'analyse de chaque prélèvement porte sur deux échantillons de 10 ml et deux de 1 ml. En outre, un essai témoin incubé à l'air est réalisé avec un échantillon de 10 ml. Après douze jours, on dénombre les colonies développées sur les cultures incubées dans le mélange H_2 /air/ CO_2 . On ne tient pas compte des colonies présentant le même aspect dans l'essai témoin.

La technique des membranes filtrantes n'est pas applicable à la numération des germes dans le sédiment. Celle-ci se fait par inoculation de cultures d'enrichissement en milieu liquide, à partir de dilutions — suspensions de l'échantillon, selon la technique classique.

Après trois semaines, la présence des hydrogénobactéries se traduit par la formation d'une pellicule jaunâtre à la surface de la culture.

La purification des souches est réalisée par des isollements successifs sur milieu minéral gélosé, en boîte de Petri, selon la méthode des stries. La pureté est en outre vérifiée par l'observation microscopique et par culture sur gélose nutritive.

Pour chaque souche isolée, la propriété d' H_2 -chimolithotrophie est vérifiée par deux repiquages sur milieu minéral gélosé. L'une des cultures est incubée en présence du mélange de gaz H_2 /air/ CO_2 , l'autre à l'air ambiant. La croissance des hydrogénobactéries est bonne dans le premier cas, faible à nulle dans le second.

LE LAC ÉTUDIÉ

Notre choix s'est porté sur le Loclat (lac de Saint-Blaise). Ce petit lac est situé au nord-est du lac de Neuchâtel, dont il constitue probablement un ancien bras (BAER 1962). Il a une longueur de 474 m et une largeur maximale de 116 m. Sa plus grande profondeur est de 9,6 m. Les rives sont abruptes et le fond remarquablement plat.

Des analyses nous ont montré qu'il s'agissait d'un lac eutrophe holomictique. En effet, la stratification thermique estivale (fig. 1.1) est accompagnée de la disparition de l'oxygène dans l'hypolimnion ; simultanément, on y observe l'accumulation de matière organique et de substrats minéraux réduits (H_2S par exemple). Lors du refroidissement, les eaux se mélangent entièrement, ce qui se traduit par la constance des différents paramètres (fig. 1.2).

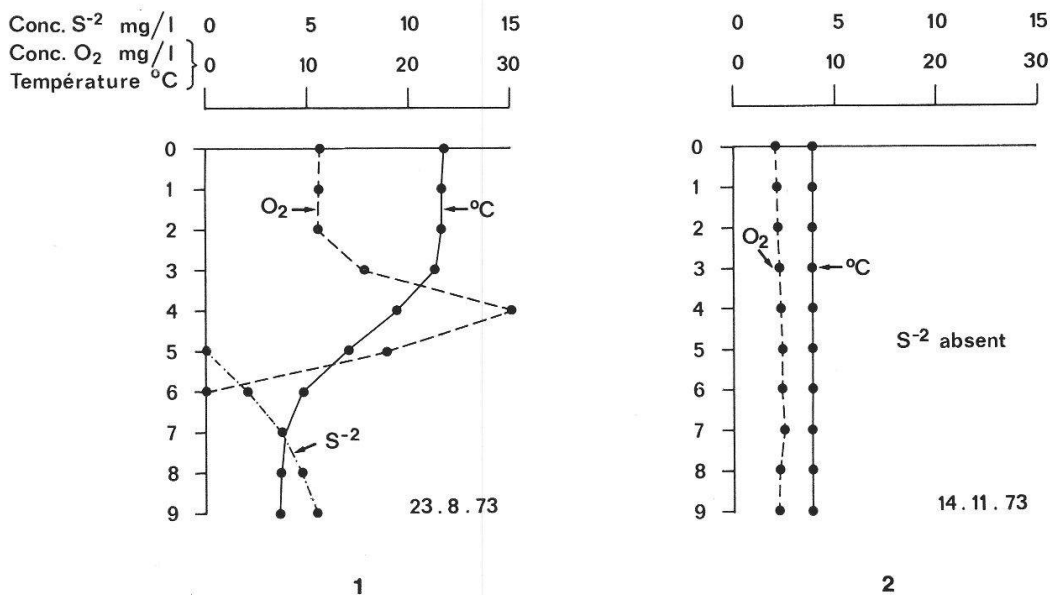


Fig. 1. Le Loclat. Température, oxygène dissous et sulfures libres, en fonction de la profondeur.

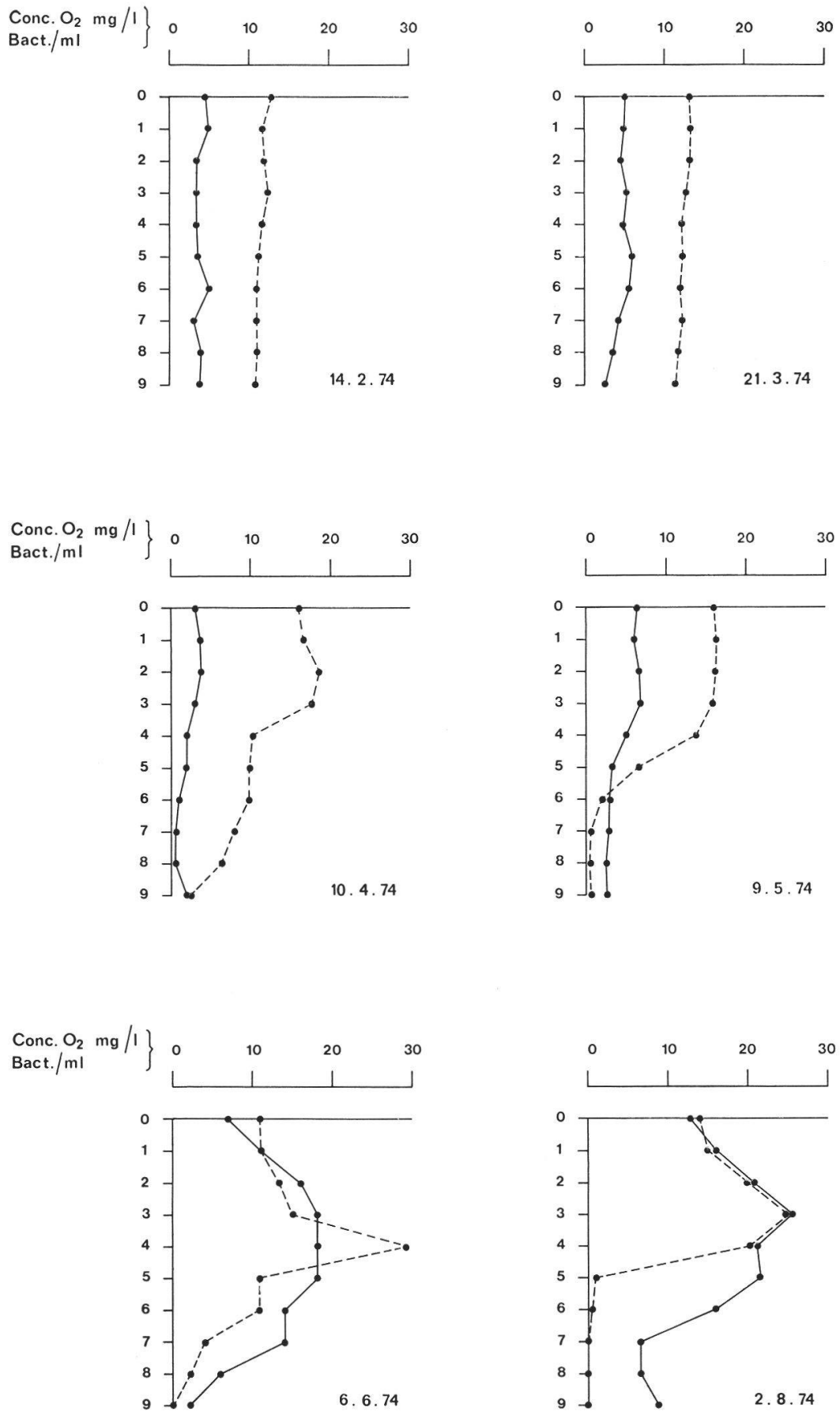


Fig. 2. Le Loclat. Répartition du nombre des hydrogénobactéries (—●—) et de la concentration de l'oxygène dissous (--●--) en fonction de la profondeur.

DÉNOMBREMENT DES HYDROGÉNOBACTÉRIES DANS L'EAU

Les résultats des analyses effectuées de février à août 1974 sont représentés à la figure 2.

Le nombre des hydrogénobactéries dans l'eau est assez faible. On les rencontre néanmoins régulièrement à toutes les profondeurs. Elles sont plus abondantes lors de la stratification estivale, principalement dans le métalimnion. Dans la zone anaérobie, elles sont nettement moins nombreuses, mais ne disparaissent pas entièrement.

DÉNOMBREMENT DES HYDROGÉNOBACTÉRIES DANS LE SÉDIMENT

Un prélèvement de sédiment par carottage a été effectué le 10 février 1974, soit au milieu de la période froide, lorsque la couche supérieure de la vase est en contact avec l'oxygène.

La carotte montrait une strate supérieure brun clair de 1 à 2 mm, le reste se présentant sous forme d'une vase noire, de texture fine. Les résultats des numérations bactériennes sont donnés au tableau I.

TABLEAU I

*Répartition des hydrogénobactéries dans le sédiment,
le 10 février 1974*

Profondeur du sédiment (cm)	Nombre de bactéries/ g de vase
0	95 000
3	20 000
10	4 500
20	450

Nous constatons une très forte diminution du nombre d'hydrogénobactéries de la surface vers la profondeur. Ce phénomène s'explique par l'absence d'oxygène dans le sédiment. Nos comptages révèlent cependant la présence de ces germes jusqu'à 20 cm au moins.

CARACTÉRISATION DE SOUCHES D'HYDROGÉNOBACTÉRIES

Nous avons isolé 38 souches d'hydrogénobactéries. Sans aller jusqu'à une détermination complète, nous avons tenté, par l'étude de quelques caractères morphologiques et biochimiques, de rechercher leurs affinités avec les groupes d'hydrogénobactéries étudiés par d'autres

auteurs. Toutes les souches isolées sont autotrophes facultatives et présentent une bonne croissance sur gélose nutritive, ce qui nous a permis d'utiliser des milieux standards pour leur caractérisation (CLARK et HALVORSON 1963, SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS 1957). Elles sont également aérobies strictes. Vingt d'entre elles étaient Gram-négatives, et 18 Gram-positives.

La plupart des Gram-négatives se sont révélées mobiles, généralement au moyen de flagelles polaires. Elles sont donc affines aux *Hydrogenomonas* Orla-Jensen 1909, rattachés au genre *Pseudomonas* par DAVIS et *al.* (1969, 1970) (pl. I, 2). Une souche présente une flagellation péritriche « dégénérée » (2-5 flagelles à insertion latérale, pl. I, 1) se rapprochant ainsi des *Alcaligenes* hydrogéo-oxydants décrits par DAVIS et *al.* (1969).

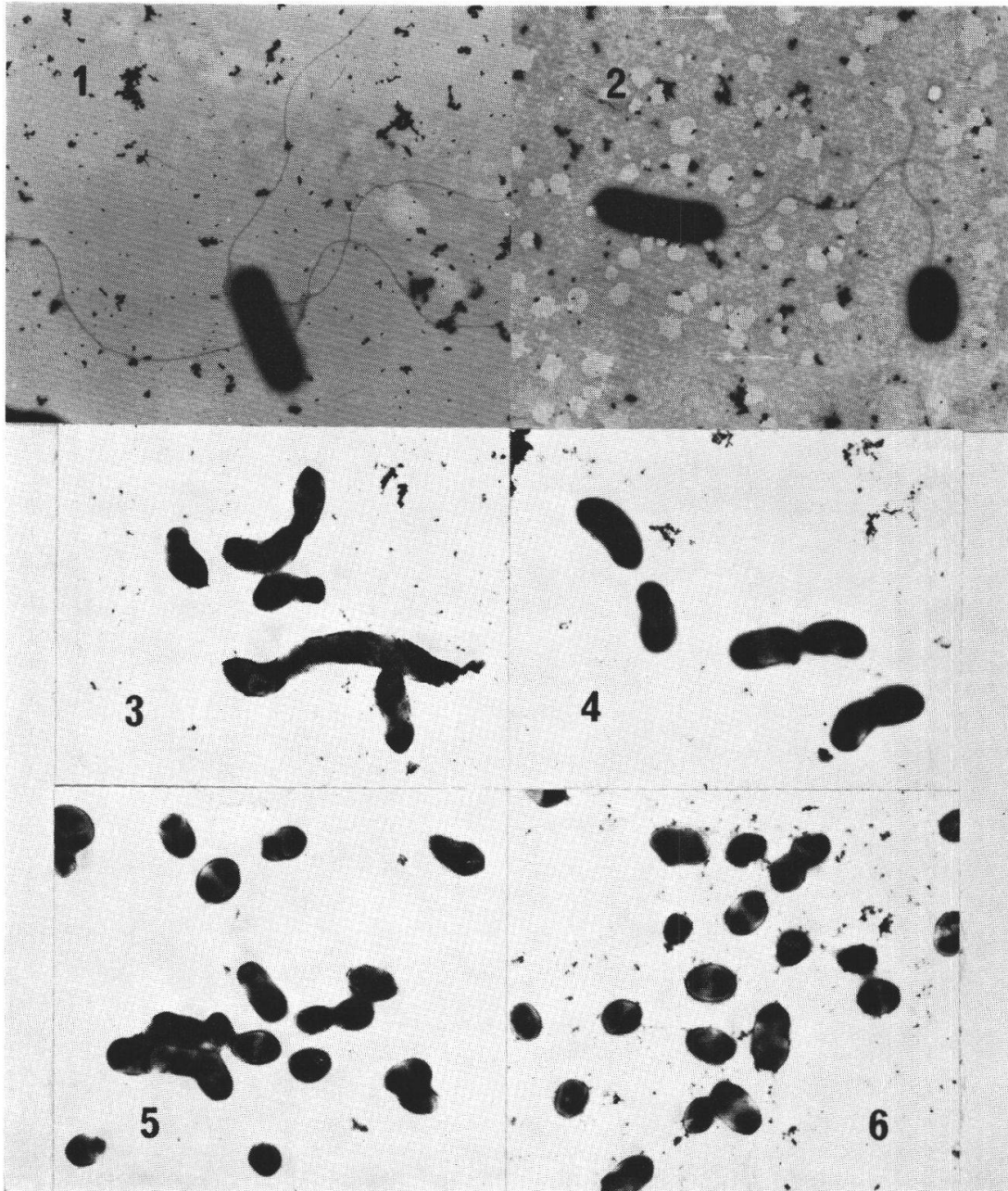
Les hydrogénobactéries Gram-positives ont jusqu'ici peu retenu l'attention des chercheurs. Pourtant, elles représentent près de la moitié de nos isollements. La plupart de ces souches présentent les mêmes caractéristiques : les colonies, après croissance autotrophe ou sur gélose nutritive, sont rondes, convexes et lisses. Elles ont une pigmentation jaune due à la présence de caroténoïdes. Les cultures jeunes montrent, sur gélose nutritive, des bâtonnets immobiles, de forme irrégulière, et souvent légèrement ramifiés (pl. I, 3). En culture autotrophe, les bâtonnets sont plus courts et réguliers (pl. I, 4). Les cultures âgées, sur gélose nutritive (pl. I, 5) comme en culture autotrophe (pl. I, 6) montrent des cellules coccoïdes. Le Gram n'est positif que chez des cultures très jeunes. Ces germes ne sont pas acidorésistants. Les hydrates de carbone ne sont pas utilisés, sauf parfois le fructose. La gélatine, la caséine et l'amidon ne sont pas hydrolysés. Le lait est alcalinisé. Les nitrates sont réduits en nitrites. La catalase est positive, faiblement chez certaines souches. Indole, acétoïne et H₂S ne sont pas produits.

Ces souches présentent donc les caractères des Corynébactéries. Elles se rapprochent beaucoup des hydrogénobactéries corynéformes, souches 14g et 7c, décrites par BAUMGARTEN et *al.* (1974) sous le nom de *Corynebacterium autotrophicum*.

DISCUSSION

Dans l'eau comme dans le sédiment, la répartition des hydrogénobactéries est en étroite relation avec la présence d'oxygène. Dans les deux cas, le maximum de germes est atteint dans la zone où les produits du métabolisme anaérobie entrent en contact avec l'oxygène : dans l'eau, au niveau du métalimnion en été ; à la surface du sédiment, en hiver. Ce sont des aérobies strictes. On note cependant leur présence en milieu anaérobie, où elles sont alors beaucoup moins nombreuses. On peut penser qu'elles ne s'y trouvent pas en état de vie active.

Lors de la stratification estivale, l'amplitude de la variation du nombre d'hydrogénobactéries en fonction de la profondeur est relativement faible, en comparaison de ce qui a été observé pour d'autres



Hydrogénobactéries. 1 : *Alcaligenes* sp. 2 : *Pseudomonas* sp. 3-7 : *Corynebacterium autotrophicum*. 3 : culture de 24 h sur gélose nutritive ; 4 : culture de 24 h en conditions d'autotrophie ; 5 : culture de 7 jours sur gélose nutritive ; 6 : culture de 7 jours en conditions d'autotrophie. Coloration à l'oxalate d'uranyle, micr. électronique, 1 et 2 : gr. 7500 \times , 3-6 : gr. 5000 \times .

groupes, comme les bactéries photolithotrophes (KUZNETSOV 1959). Ceci peut s'expliquer par le caractère facultatif de l'autotrophie des hydrogénobactéries. Lorsque les conditions de leur développement chimolithotrophe (présence simultanée de H_2 , O_2 et CO_2) sont réalisées, elles sont certainement favorisées. Dans le cas contraire, elles peuvent néanmoins croître en organotrophes. Les relations entre ces deux types de métabolisme ont été étudiées en détail par plusieurs auteurs (p. ex. GOTTSCHALK 1965 ; BLACKKOLB et SCHLEGEL 1968 ; DECICCO et STUKUS 1968 ; SCHLEGEL et EBERHARDT 1972 ; SCHNEIDER et *al.* 1973 ; PROBST et SCHLEGEL 1973). Chez certaines espèces, l'hydrogénase, enzyme responsable de l'oxydation de l'hydrogène moléculaire, est constitutive. Chez d'autres, elle est adaptative, et partiellement réprimée dans des conditions de croissance mixotrophe (présence simultanée de « Knallgas » et de certains substrats organiques). Inversément, le mélange $H_2 + O_2$ inhibe le métabolisme organotrophe (SCHLEGEL et EBERHARDT 1972 ; SCHNEIDER et *al.* 1973). Dans les conditions naturelles, il doit donc s'établir un équilibre entre les deux types de métabolisme ; cet équilibre peut différer suivant les organismes considérés.

Parmi les hydrogénobactéries à Gram négatif, nous avons rencontré les deux types de flagellation décrits par DAVIS et *al.* (1969), correspondant aux genres *Pseudomonas* et *Alcaligenes*. L'assignation, à ce dernier genre, des hydrogénobactéries à flagellation péritriche nous paraît sujette à caution. En effet, la faculté qu'ont ces bactéries d'utiliser les hydrates de carbone est en désaccord avec la définition du genre *Alcaligenes* (BREED et *al.* 1957).

L'abondance, dans le Loclat, des hydrogénobactéries à Gram-positif est un fait à retenir. La plupart d'entre elles sont des bactéries corynéformes, dont la découverte est très récente (SCHNEIDER et *al.* 1973). Cette abondance est-elle particulière au milieu étudié ? Une étude écologique de la distribution des hydrogénobactéries dans différents milieux aquatiques, sédiments, stations d'épuration, et aussi dans différents types de sols, devrait être entreprise dans ce sens.

Remerciements

Nous remercions vivement les personnes suivantes, qui nous ont aidés à la réalisation de ce travail : M. le professeur Ch. Terrier, qui nous a prodigué ses conseils et a revu notre manuscrit ; nos amis Ch. Auroi et D. Strub, membres du Centre de sports subaquatiques de Neuchâtel, qui ont réalisé les carottages de sédiment ; M. le Dr H. Sollberger, chimiste cantonal, et M. O. Schetty, qui ont mis à notre disposition le matériel de prélèvements et de mesures ; M. R. Vuilleumier, de Saint-Blaise, qui nous a prêté son bateau ; nos amis L.-Ph. Hébert et A. Welter, qui ont traduit le résumé.

Résumé

Les auteurs mettent en évidence la présence d'hydrogénobactéries dans un petit lac eutrophe holomictique. Dans l'eau, leur nombre est assez faible et atteint son maximum en été, au niveau du métalimnion. Elles sont abondantes à la surface du sédiment, en hiver, et leur quantité diminue rapidement avec la profondeur.

Un certain nombre de souches d'hydrogénobactéries ont été isolées, parmi lesquelles des bactéries à Gram-négatif, les unes à flagellation polaire, d'autres à flagellation péritriche, et des bactéries à Gram positif, immobiles, corynéformes pour la plupart.

Zusammenfassung

Die Autoren erforschen das Vorkommen von Wasserstoffbakterien in einem kleinen holomiktischen eutrophen See. Im Wasser sind diese Bakterien wenig zahlreich, und ihre Zahl erreicht einen Höchstwert im Sommer, im Metalimnion. Im Winter gibt es deren sehr viele an der Oberfläche des Sedimentes, und ihre Zahl nimmt rasch mit der Tiefe ab.

Einige Stämme von Wasserstoffbakterien wurden isoliert, darunter Gram-negative Bakterien, die einen mit polarer Begeißelung, andere mit peritricher Begeißelung, sowie Gram-positive, unbewegliche, meist coryneforme Bakterien.

Summary

The authors show presence of hydrogen bacteria in a small holomictic eutrophic lake. Their number generally is low in water and reaches a maximum in metalimnion during summer. They are numerous over the sediment layer in winter and there, their number rapidly decreases with depth.

Some strains of hydrogen bacteria were isolated among which were Gram-negative bacteria, some with polar flagella, other with peritrichous flagella, and Gram-positive, non motile, mostly coryneform bacteria.

BIBLIOGRAPHIE

- AGGAG, M. et SCHLEGEL, H. G. — (1973). Studies on a Gram-positive hydrogen bacterium, *Nocardia opaca* strain Ib. 1. Description and physiological characterization. *Arch. Mikrobiol.* 88 (4) : 299-318.
- BAER, J. G. — (1962). Le Loclat. Dans « Saint-Blaise au bord de l'eau ». *Saint-Blaise* (Ed. commission du 3-Février).
- BAUMGARTEN, J., REH, M. et SCHLEGEL, H. G. — (1974). Taxonomic studies on some gram-positive coryneform hydrogen bacteria. *Arch. Microbiol.* 100 : 207-217.

- BLACKKOLB, F. et SCHLEGEL, H. G. — (1968). Katabolische Repression und Enzymhemmung durch molekularen Wasserstoff bei *Hydrogenomonas*. *Arch. Mikrobiol.* 62 : 129-143.
- BREED, R. S., MURRAY, E. G. D. et SMITH, N. R. — (1957). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7^e éd. 1094 pp., *Baltimore* (Williams & Wilkins).
- CLARK, F. M. et HALVORSON, H. O. — (1963). Laboratory Outline for General Bacteriology. 83 pp., *Minneapolis* (Burgess Publishing Company).
- DAVIS, D. H., DOUDOROFF, M., STANIER, R. Y. et MANDEL, M. — (1969). Proposal to reject the genus *Hydrogenomas* : Taxonomic implications. *Int. J. Syst. Bact.* 19 (4) : 375-390.
- (1970). Taxonomic studies on some Gram-negative polarly flagellated « hydrogen bacteria » and related species. *Arch. Mikrobiol.* 70 : 1-13.
- DECICCO, B. T. et STUKUS, P. E. — (1968). Autotrophic and heterotrophic metabolism of *Hydrogenomonas*. I. Growth yields and patterns under dual substrate conditions. *J. Bacteriol.* 95 (4) : 1469-1475.
- EBERHARDT, U. — (1965). Die Anreicherung von Knallgasbakterien. In : Anreicherungskultur und Mutantenauslese. Schlegel, H. G. éd. *Zbl. Bakt. I. Abt. (Suppl. 1)* : 155-169.
- GOTTSCHALK, G. — (1965). Die Verwertung organischer Substrate durch *Hydrogenomonas* in Gegenwart von molekularem Wasserstoff. *Biochem. Z.* 341 : 260-270.
- HIRSCH, P. — (1961). Wasserstoffaktivierung und Chemoautotrophie bei Actinomyceten. *Arch. Mikrobiol.* 39 : 360-373.
- KUZNETSOV, S. I. — (1959). Die Rolle der Mikroorganismen im Stoffkreislauf der Seen. 301 pp., *Berlin* (VEB Dtsch. Verl. der Wissenschaften).
- LUKINS, H. B. et FOSTER, J. W. — (1963). Utilization of hydrocarbons and hydrogen by Mycobacteria. *Z. Allg. Mikrobiol.* 3 : 251-264.
- PROBST, I. et SCHLEGEL, H. G. — (1973). Studies on a Gram-positive hydrogen bacterium, *Nocardia opaca* strain lb. II. Enzyme formation and regulation under the influence of hydrogen or fructose as growth substrates. *Arch. Mikrobiol.* 88 : 319-330.
- SCHLEGEL, H. G. et EBERHARDT, U. — (1972). Regulatory phenomena in the metabolism of Knallgasbacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 7 : 205-242.
- SCHLEGEL, H. G. et LAFFERTY, R. M. — (1971). Novel energy and carbon sources. A. The production of biomass from hydrogen and carbon dioxide. *Adv. Biochem. Engng* 1 : 143-168.
- SCHNEIDER, K., RUDOLPH, V. et SCHLEGEL, H. G. — (1973). Description and physiological characterization of a coryneform hydrogen bacterium, strain 14g. *Arch. Mikrobiol.* 93 : 179-193.
- SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS. — (1957). Manual of Microbiological Methods. 315 pp., *New York* (McGraw-Hill).
- STANIER, R. Y., DOUDOROFF, M. et ADELBERG, E. A. — (1971). General Microbiology, 3^e éd. 873 pp., *Londres* (Macmillan).
-