

# **Isolement, caractérisation et essai d'identification de bactéries capables d'utiliser l'oxalate comme seule source de carbone et d'énergie**

Autor(en): **Tamer, Abdurrahman Ü. / Aragno, Michel**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **103 (1980)**

PDF erstellt am: **30.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-89155>

## **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.

# ISOLEMENT, CARACTÉRISATION ET ESSAI D'IDENTIFICATION DE BACTÉRIES CAPABLES D'UTILISER L'OXALATE COMME SEULE SOURCE DE CARBONE ET D'ÉNERGIE

par

**ABDURRAHMAN Ü. TAMER et MICHEL ARAGNO**

AVEC 4 FIGURES ET 6 TABLEAUX

---

## INTRODUCTION

L'acide oxalique se rencontre chez un nombre considérable de végétaux, le plus souvent sous la forme de cristaux d'oxalate de calcium ou de magnésium, parfois aussi sous forme dissoute (acide libre ou sel de potassium). Les genres *Oxalis*, *Rumex*, *Rheum*, *Eucalyptus* en renferment des quantités importantes. Chez certaines *Cactaceae*, on peut même en trouver jusqu'à 80-90 % du poids sec. Il y en a dans toutes les parties de la plante, en particulier dans l'écorce et dans les feuilles (THOMAS 1936). Parmi les champignons, certains *Aspergillus* et *Penicillium* sont d'actifs producteurs d'acide oxalique. On trouve également des cristaux d'oxalate chez *Mucor mucedo* (URBANUS et al. 1978) et chez de nombreuses espèces de Basidiomycètes, *Agaricales* et *Aphylliphorales* (J. Keller, communication personnelle).

La signification de ces accumulations d'oxalate n'est pas toujours claire. On admet souvent qu'il s'agit de produits de déchet du métabolisme.

Comme on n'observe en général pas d'accumulations importantes d'oxalate dans les sols, il faut admettre qu'il est rapidement éliminé par les microorganismes, aussi bien sous forme soluble que sous forme cristallisée (sels de calcium ou de magnésium). On ne connaît cependant qu'un nombre limité d'espèces ou de souches bactériennes capables d'utiliser l'oxalate comme seule source de carbone, d'électrons et d'énergie (tableau I). Parmi celles-ci, nous noterons la présence d'une hydrogénobactérie, *Alcaligenes eutrophus*, qui est capable de croître aussi bien en autotrophie, en présence de  $H_2 + O_2 + CO_2$ , qu'en conditions hétérotrophes, à l'air, aux dépens d'une grande variété de substrats organiques (ARAGNO et SCHLEGEL 1980).

## TABLEAU I

## Les bactéries « oxaliques »

Organisme	Références
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	FRIEDRICH <i>et al.</i> (1979)
<i>Alcaligenes</i> Lox	CHANDRA et SHETHNA (1975)
<i>Bacterium oxalaticum</i>	KHAMBATA et BHAT (1953)
<i>Clostridium</i> sp.	BHAT (1966)
<i>Mycobacterium</i> sp.	KHAMBATA et BHAT (1953)
<i>Proactinomyces</i> sp.	MÜLLER (1950)
<i>Pseudomonas oxalaticus</i>	KHAMBATA et BHAT (1953)
<i>Pseudomonas</i> OD 1	JAYASURIYA (1955)
<i>Pseudomonas</i> M 27	ANTHONY et ZATMAN (1964)
<i>Pseudomonas</i> RJ 1	MEHTA (1973)
<i>Pseudomonas</i> Yox	CHANDRA et SHETHNA (1975)
<i>Pseudomonas</i> Mox	CHANDRA et SHETHNA (1975)
<i>Pseudomonas</i> Kox	CHANDRA et SHETHNA (1975)
<i>Pseudomonas</i> AM 1	PEEL et QUAYLE (1961)
<i>Pseudomonas</i> AM 2	PEEL et QUAYLE (1961)
<i>Streptomyces</i> sp.	KHAMBATA et BHAT (1953)
<i>Thiobacillus novellus</i>	STARKEY (1935)
<i>Vibrio extorquens</i>	BASSALIK (1913)
<i>Vibrio oxalaticus</i>	BHAT et BARKER (1948)

Deux voies d'assimilation de l'oxalate ont été décrites : la voie du glycolate, chez *Pseudomonas oxalaticus* (QUAYLE *et al.* 1961) et celle de la sérine, chez *Pseudomonas* AM 2 (BLACKMORE et QUAYLE 1970). En revanche, le transfert d'électrons de l'oxalate à la chaîne respiratoire est mal connu.

Le présent travail est consacré à l'étude de bactéries « oxaliques » isolées de sols enrichis par la litière de plantes productrices d'oxalate. Les souches obtenues seront caractérisées et comparées à celles décrites par d'autres auteurs. Nous tenterons d'établir les conditions physico-chimiques optimales de leur croissance, et le rendement de celle-ci. En outre nous étudierons l'aptitude d'hydrogénobactéries à se développer avec l'oxalate comme seule source de carbone et d'énergie.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le milieu minéral de base est celui décrit par ARAGNO et SCHLEGEL (1980). Il comprend, par litre d'eau distillée : 4,5 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  ; 1,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ; 1 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ; 0,2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  ; 0,005 g de citrate ferrique ammoniacal ; 0,01 g  $\text{CaCl}_2$  ; 50  $\mu\text{g}$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  ; 15  $\mu\text{g}$   $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  ; 150  $\mu\text{g}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$  ; 100  $\mu\text{g}$   $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  ; 50  $\mu\text{g}$   $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  ; 10  $\mu\text{g}$   $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  ; 15  $\mu\text{g}$   $\text{NaMoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ . Le pH est de 7,1.

Les cultures d'enrichissement sont réalisées dans des flacons pyrex de 100 ml contenant 20 ml de milieu minéral de base additionné de 0,4 % d'oxalate de potassium<sup>1</sup>. Les flacons sont inoculés avec env. 1 g de l'échantillon de sol, et incubés à 28 °C sous agitation (150 t/min, amplitude 2,5 cm) pendant 5 jours. Le procédé d'enrichissement est répété 3 fois par transfert de 1 ml dans un milieu identique.

Pour les tests de croissance, les sources de carbone sont stérilisées séparément et ajoutées au milieu minéral de base à une concentration finale de 0,2 % pour les sucres, de 0,02 % pour le phénol, et de 0,1 % pour les autres substrats carbonés. Pour préparer les milieux gélosés, l'agar (Oxoid N° 1) est stérilisé séparément en solution aqueuse concentrée et ajouté à une concentration finale de 1,4 %.

Le test de dissolution de l'oxalate de calcium est réalisé en boîtes de Petri. Sur 20 ml de milieu minéral gélosé solidifié, on verse 5 ml d'un même milieu, fondu, contenant une suspension (7 mg/ml) d'oxalate de calcium précipité. On obtient ainsi, après solidification, une dispersion uniforme des cristaux.

Pour l'essai de différentes sources d'azote, on ajoute au milieu minéral de base (sans NH<sub>4</sub>Cl) 0,2 % de L-malate (source de carbone utilisée par toutes les souches étudiées et donnant une croissance abondante) et 0,1 % de la source d'azote à tester (0,02 % de NaNO<sub>2</sub>).

Les tests biochimiques classiques sont réalisés d'après HOLDING et COLLEE (1971) et le « Manual of Microbiological Methods » (SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS, 1957).

Les tests de croissance autotrophe sont faits sur milieu minéral additionné de 0,05 % de NaHCO<sub>3</sub> (ARAGNO et SCHLEGEL 1980). Les cultures sont placées dans des dessiccateurs contenant 5 % d'O<sub>2</sub>, 10 % de CO<sub>2</sub> et 85 % de H<sub>2</sub>, sous une pression totale de 620 mm Hg, et incubées une semaine à 28 °C. Les essais de croissance avec le méthane sont réalisés de même, dans une atmosphère contenant 50 % de CH<sub>4</sub> et 50 % d'air.

On mesure la croissance des cultures en milieu liquide par turbidimétrie à 436 nm (546 nm pour les souches pigmentées en jaune) en cuvettes de 1 cm au moyen d'un spectrophotomètre Zeiss PM 4.

On détermine la consommation d'oxalate par titration au permanganate.

Les essais de croissance en fonction de la température sont effectués au moyen d'un incubateur à gradient thermique (Scientific Industries Inc., modèle 675).

## RÉSULTATS

### *Caractéristiques des souches isolées*

Par enrichissement sur oxalate selon le procédé décrit ci-dessus et isolement par étalements répétés sur milieu gélosé en boîte de Petri, nous avons obtenu 8 souches de bactéries « oxaliques ». Une souche (TA 1) a été isolée de terre de jardin à un endroit non cultivé au moment du prélèvement. Trois (TA 2, 3 et 7) provenaient de terre prélevée sous des plantes de *Rumex*, tandis que quatre autres (TA 4, 5, 6 et 8) ont été obtenues à partir d'échantillons de sol récoltés sous des plantes d'*Arum*. La pureté des souches a été confirmée par étalement sur gélose nutritive et par des observations microscopique. Leurs principales caractéristiques sont données au tableau II.

<sup>1</sup> Les concentrations (en %) sont exprimées en poids par volume de solution.

TABLEAU II

*Caractéristiques des souches isolées*

	TA1	TA2	TA3	TA4	TA5	TA6	TA7	TA8
Cellules végétatives	b <sup>1</sup>	b	b	b	b	b	b	b
Endospores	—	—	—	—	—	—	—	—
Capsules	—	—	—	—	—	—	—	—
Mobilité	+	+	+	+	+	+	+	+
Pigments	r <sup>1</sup>	—	r	—	r	—	—	—
Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram	—	—	—	—	—	—	—	—
Acétoïne	—	—	—	—	—	—	—	—
Rouge de méthyle	—	—	—	—	—	—	—	—
Indole	—	—	—	—	—	—	—	—
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+
Uréase	—	+	—	+	—	—	—	+
Hydrolyse de l'amidon	—	—	—	—	—	—	—	—
Hydrolyse de la caséine	—	—	—	—	—	—	—	—
Hydrolyse de la gélatine	—	—	—	—	—	—	—	—
Production de H <sub>2</sub> S	—	—	—	—	—	—	—	—
Réduction du nitrate en nitrite	—	+	—	+	—	+	+	+
Lait + tournesol	alc <sup>1</sup>	red <sup>1</sup>	alc	red	alc	alc	red	alc
Croissance sur gélose nutritive à 37 °C	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance sur extrait de levure à 1 %	+	+	+	+	+	+	+	+
Utilisation des sources de carbone:								
D-glucose	—	—	—	+	—	—	—	—
D-galactose	—	—	—	—	—	—	—	—
D-fructose	—	+	—	+	—	—	+	+
L-arabinose	—	—	—	—	—	—	—	—
D-mannose	—	—	—	—	—	—	—	—
D-xylose	—	—	—	—	—	—	—	—
D-ribose	—	—	—	+	—	—	—	—
Saccharose	—	—	—	—	—	—	—	—
Maltose	—	—	—	—	—	—	—	—
Lactose	—	—	—	—	—	—	—	—
Dextrine	—	—	—	—	—	—	—	—
Amidon	—	—	—	—	—	—	—	—
Formiate	+	—	+	—	+	—	—	—
Acétate	+	+	+	+	+	—	+	+
Glycolate	—	+	—	+	—	+	+	+
Glyoxylate	—	+	—	+	—	+	+	+
Oxalate	+	+	+	+	+	+	+	+

<sup>1</sup> b: bâtonnets; r: pigment rose; alc: milieu alcalinisé; red: tournesol réduit.



*Utilisation de l'oxalate comme seule source de carbone et d'énergie par des hydrogénobactéries*

15 souches représentant 13 espèces d'hydrogénobactéries, ainsi que quatre souches non déterminées, ont été repiquées sur milieu minéral liquide contenant 0,3 % d'oxalate de potassium, d'une part, et sur milieu gélosé en double couche contenant une suspension (7 mg/ml) d'oxalate de calcium précipité. L'utilisation de l'oxalate se traduisait, dans le premier cas, par l'augmentation de la turbidité due à la croissance bactérienne (comparaison avec une culture témoin sans oxalate) et, dans le second cas, par la formation autour des colonies d'une zone transparente correspondant à la dissolution des cristaux d'oxalate (fig. 1). Les résultats (tableau III) montrent que les souches appartenant à trois espèces (*Alcaligenes eutrophus*, *A. paradoxus* et *Xanthobacter autotrophicus*) sont capables d'utiliser l'oxalate, aussi bien sous forme dissoute (sel de potassium) que sous la forme des cristaux du sel de calcium.

Dans le but de vérifier si l'utilisation de l'oxalate était un caractère constant chez *X. autotrophicus*, nous avons étendu les essais ci-dessus à 46 souches de cette espèce, ainsi qu'à 4 souches (SA 35, MA 2, MA 37 et MA 40) affines à *X. autotrophicus* par de nombreux caractères – micro-morphologie (ARAGNO et al. 1977; WALTHER-MAURUSCHAT et al. 1977), pigmentation, aptitude à fixer l'azote (ARAGNO et SCHLEGEL 1980) – mais s'en distinguant par leur motilité et la forme régulière de leurs cellules. Nous avons observé une croissance en présence d'oxalate chez 40 des 46 souches de *X. autotrophicus* (86 %), tandis qu'aucune des quatre souches mobiles ne poussait dans ces conditions.

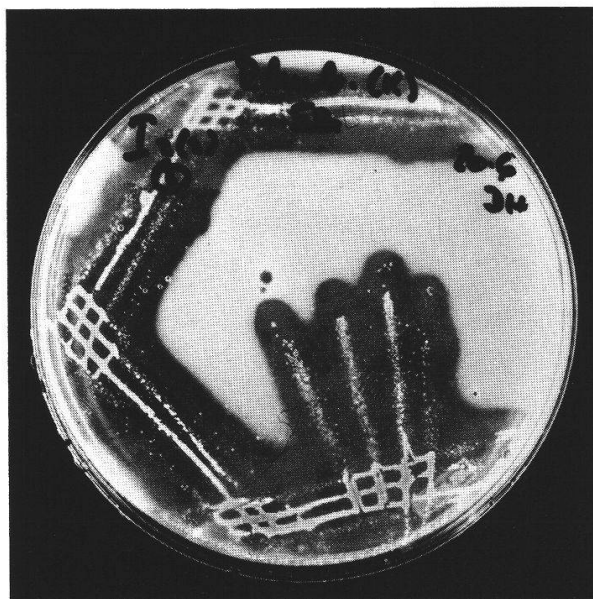


Fig. 1. Test de dissolution de l'oxalate de calcium, en boîte de Petri.



TABLEAU III

*Utilisation de l'oxalate par des souches d'hydrogénobactéries*

Organisme	Oxalate de Ca	Oxalate de K
<i>Alcaligenes eutrophus</i> H 16 = DSM <sup>1</sup> 428	+	+
<i>Alcaligenes paradoxus</i> SA 29	+	+
<i>Alcaligenes latus</i> HN	—	—
<i>Aquaspirillum autotrophicum</i> SA 32 = DSM 732	—	—
<i>Bacillus schlegelii</i> <sup>2</sup> MA 48 = DSM 2000	—	—
<i>Mycobacterium gordonae</i> Au	—	—
<i>Nocardia autotrophica</i> S 10	—	—
<i>Nocardia opaca</i> 1b = DSM 427	—	—
<i>Paracoccus denitrificans</i> DSM 65	—	—
<i>Paracoccus denitrificans</i> DSM 415	—	—
<i>Pseudomonas facilis</i> DSM 620	—	—
<i>Pseudomonas palleronii</i> DSM 63	—	—
<i>Pseudomonas pseudoflava</i> GA 3 = DSM 1034	—	—
<i>Xanthobacter autotrophicus</i> 14 g = DSM 431	+	+
<i>Xanthobacter autotrophicus</i> SA 23	+	+

<sup>1</sup> DSM = Deutsche Sammlung von Mikroorganismen (Göttingen, R.F.A.).

<sup>2</sup> Test effectué à 65 °C (espèce thermophile).

*Conditions physico-chimiques de croissance*

Dans le but de rendre leur croissance optimale, nous avons étudié la toxicité de l'oxalate chez certaines des souches isolées, ainsi que l'effet du pH et de la température.

L'oxalate n'est pas toléré également par toutes les souches (fig. 2). Les souches pigmentées TA 1, TA 3 et TA 5 ont un rendement de croissance optimal jusqu'à 0,35 % d'oxalate de potassium. Elles sont inhibées à une concentration supérieure. En revanche, les autres souches tolèrent des concentrations plus élevées: 1,04 % pour TA 6 et 1,33 % pour TA 2 et TA 4. *Xanthobacter autotrophicus* tolère au plus 0,24 % d'oxalate de potassium.

Les conditions optimales pour la température et le pH sont données au tableau IV.

TABLEAU IV

*Optima de température et de pH*

	TA 1	TA 2	TA 4	TA 6
Température optimale (°C)	26,6	27,8	36,0	25,6
pH optimal	nd <sup>1</sup>	nd	7,1	nd

<sup>1</sup> Non déterminé.



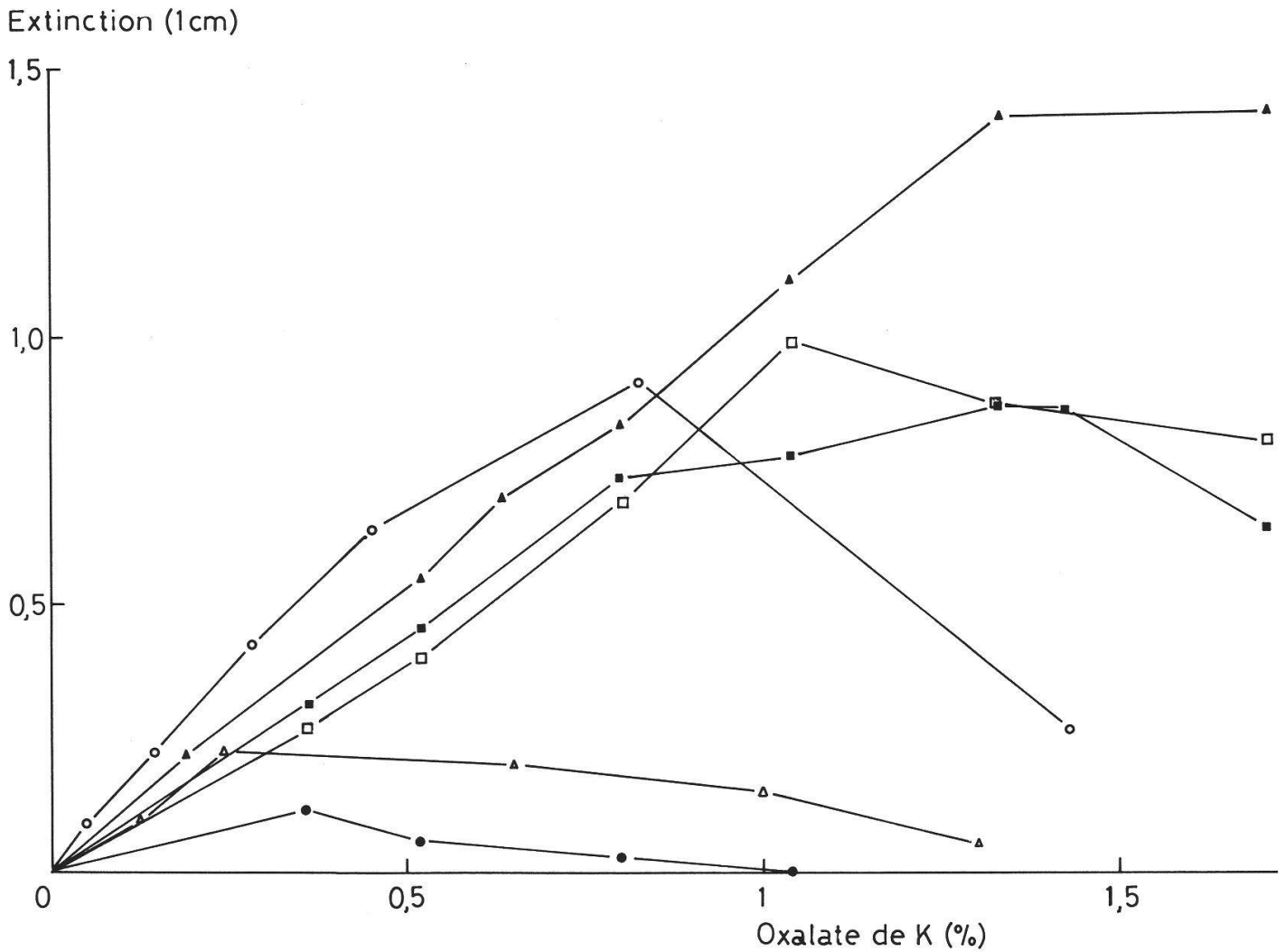


Fig. 2. Effet de la concentration d'oxalate sur la croissance. L'extinction due à la turbidité est mesurée en fin de croissance sur les cultures agitées en milieu liquide (milieu minéral de base + oxalate de potassium à la concentration indiquée).

— ● — TA 1      — ○ — *Alcaligenes eutrophus* H 16  
 — ■ — TA 2      — □ — *Xanthobacter autotrophicus* SA 34  
 — ▲ — TA 4      — △ — TA 6

### *Croissance en milieu liquide*

Des cultures en milieu liquide (300 ml) des souches TA 1 et TA 4 ont été réalisées dans des fioles d'Erlenmeyer à chicanes de 1000 ml, placées sur un agitateur rotatif (150 t/min, amplitude 2,5 cm) à 28 °C. Les courbes de croissance obtenues sont données à la figure 3. Le tableau V montre les taux de croissance en phase exponentielle, en comparaison avec ceux obtenus par d'autres auteurs.

Le rendement de la croissance a été établi pour la souche TA 4, au cours de la phase exponentielle. Il s'est élevé, pour l'oxalate, à  $Y_m = 2,95$  g/mole.

Extinction ( 1 cm ; 435 nm )

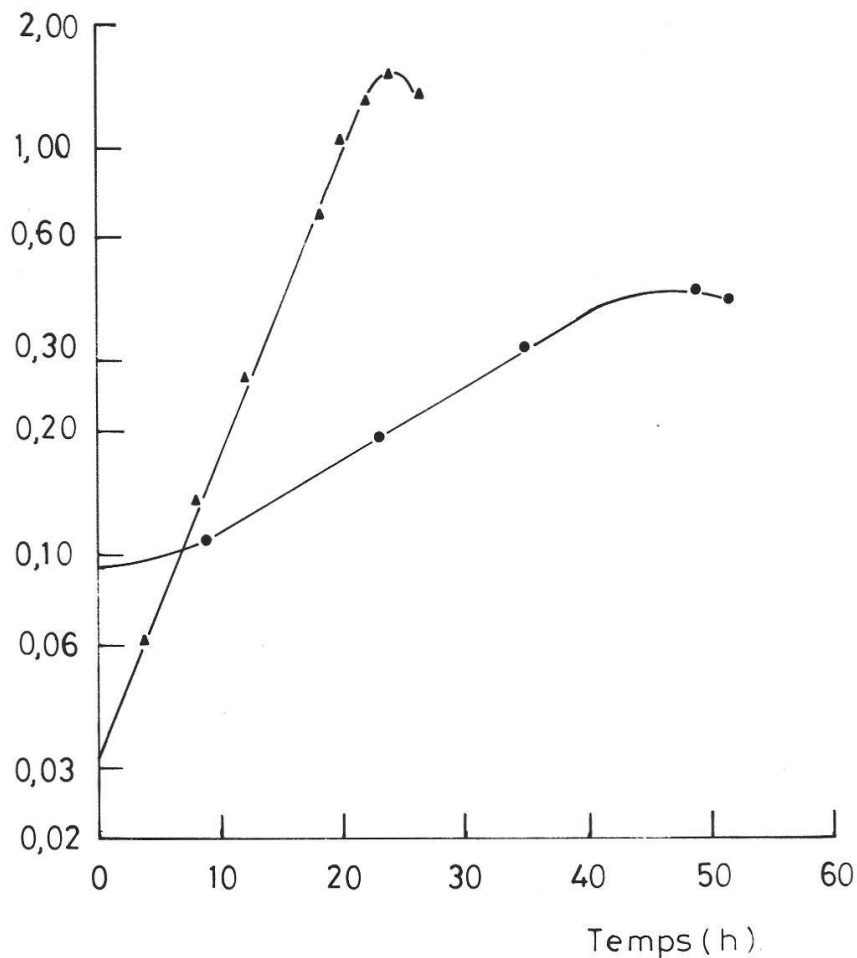


Fig. 3. Croissance en milieu liquide non renouvelé des souches TA 1 (— ● —) et TA 4 (— ▲ —).

TABLEAU V

Taux népérien de croissance (  $\mu$  ) et temps de génération (  $t_g$  )  
en phase exponentielle

Organisme	$\mu$ (h <sup>-1</sup> )	$t_g$ (h)	références
TA 1	0,043	16,0	
TA 4	0,17	4,0	
<i>Alcaligenes eutrophus</i> H 16	0,17	4,0	FRIEDRICH et al (1979)
<i>Pseudomonas oxalaticus</i> OX 1	0,151	4,5	BLACKMORE et QUAYLE (1970)
<i>Pseudomonas</i> Mox	0,136	5,0	CHANDRA et SHETHNA (1975)
<i>Pseudomonas extorquens</i>	0,068	10,0	BLACKMORE et QUAYLE (1970)
<i>Pseudomonas</i> AM 2	0,068	10,0	BLACKMORE et QUAYLE (1970)
<i>Thiobacillus novellus</i>	0,061	11,0	CHANDRA et SHETHNA (1977)
<i>Pseudomonas</i> AM 1	0,052	13,0	BLACKMORE et QUAYLE (1970)
<i>Protaminobacter ruber</i>	0,037	18,0	BLACKMORE et QUAYLE (1970)

DISCUSSION

Des bactéries oxaliques ont été isolées d'habitats fort divers : rumen de moutons (MÜLLER 1950), excréments de chiens (BHAT 1966) et de volailles (CHANDRA et SHETHNA 1975), déjections de vers de terre (KHAMBATA et BHAT 1953) et divers types de sols (BASSALIK 1913; STARKEY 1935; BHAT et BARKER 1948; JAYASURIYA 1955; ANTHONY et ZATMAN 1964; MEHTA 1973, et le présent travail). L'acide oxalique étant d'une part très répandu dans le règne végétal, les bactéries « oxaliques » ayant d'autre part la faculté d'utiliser un grand nombre de substrats organiques différents, cette répartition s'explique aisément. On doit néanmoins s'attendre à ce que les sols recevant une litière de plantes oxalifères soient enrichis en bactéries « oxaliques ». A notre connaissance, aucune étude écologique n'a encore été entreprise dans ce sens.

A partir des caractéristiques données au tableau II, nous avons comparé entre elles les souches que nous avons isolées. Une matrice de similitude a été établie sur la base du coefficient de Jaccard, ce qui nous a permis de construire, par la méthode du « single linkage clustering » (SNEATH et SOKAL 1973), le dendrogramme de la figure 4. On peut y distinguer deux groupes :

Le premier groupe est constitué par les souches pigmentées en rose : TA 1, TA 3 et TA 5. Ces souches sont pratiquement identiques, se regroupant à un niveau de similitude de 97 %. Elles ressemblent aux *Pseudomonas* AM 1 (PEEL et QUAYLE 1961) et AM 1 var. 470 (CHANDRA et SHETHNA 1975), à *Pseudomonas* M 27 (ANTHONY et ZATMAN 1964). Toutes ces souches doivent être probablement rattachées à l'espèce *Vibrio extorquens* (BASSALIK) BHAT et BARKER 1948 (STOCKS et McCLESKEY 1964).

Le second groupe comprend les souches non pigmentées TA 2, TA 4, TA 7, TA 8 et TA 6. Les quatre premières se regroupent à 90 % de similitude ; elles ressemblent à *Pseudomonas oxalaticus* souches OX 4, OX 6 et OX 23 (KHAMBATA et BHAT 1953). TA 6 semble se rapprocher davantage des souches *Alcaligenes* Lox (CHANDRA et SHETHNA 1975) et *Pseudomonas* OD 1 (JAYASURIYA 1955). Dans l'ensemble, nos cinq souches ressemblent beaucoup à *Alcaligenes eutrophus*, mise à part la propriété qu'ont les souches de cette dernière espèce de croître en conditions autotrophes avec l'hydrogène.

Les données taxonomiques de la littérature sont trop incomplètes pour permettre une identification certaine. *Pseudomonas oxalaticus*, l'espèce la plus étudiée de ce groupe pour le métabolisme de l'oxalate et du formiate, ne figure que dans les addenda au genre *Pseudomonas*, dans la dernière édition du « Bergey's Manual » (BUCHANAN et GIBBONS 1974). Quant à *Vibrio extorquens*, c'est une « *species incertae sedis* ». Une étude taxonomique approfondie des bactéries « oxaliques » devrait donc être entreprise.

Bien que trois espèces au moins d'hydrogénobactéries soient à même d'utiliser l'oxalate comme seule source de carbone et d'énergie, aucune des souches isolées par enrichissement sur l'oxalate n'était capable d'une croissance autotrophe avec l'hydrogène comme source d'énergie et d'électrons. Comme *X. autotrophicus* et *A. paradoxus* sont fréquents dans les sols, on

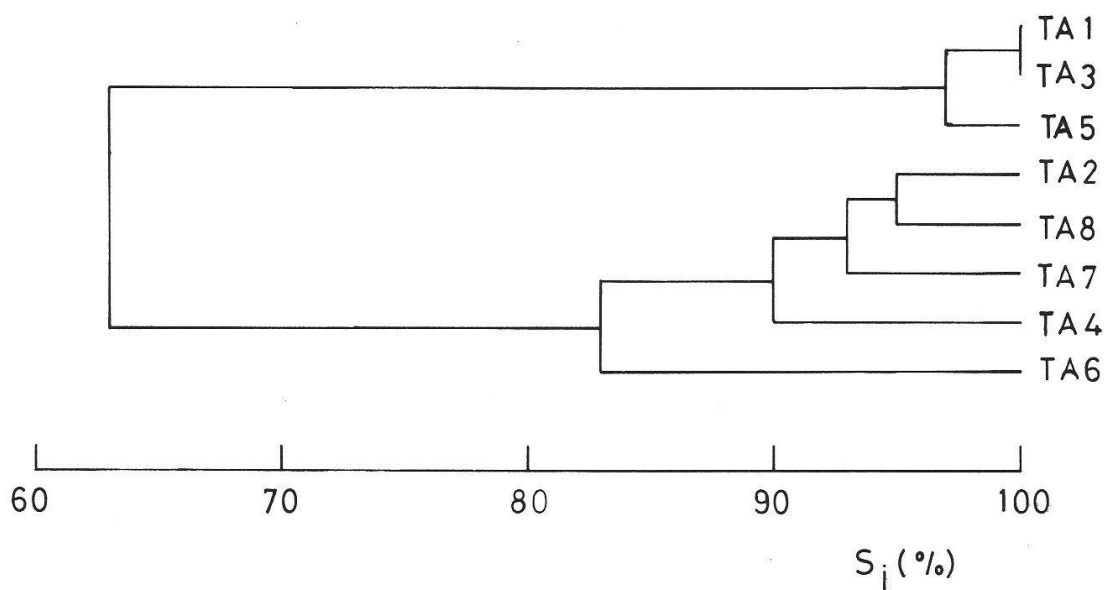


Fig. 4. Représentation dendrogrammatique des relations entre les souches isolées. Explications: voir texte.

peut penser que les conditions d'enrichissement choisies ici ont favorisé les autres bactéries oxaliques.

La mise en évidence de l'utilisation de l'oxalate chez certaines hydrogénobactéries est un résultat particulièrement intéressant. Jusqu'ici, cette propriété n'avait été étudiée que chez *Alcaligenes eutrophus* (FRIEDRICH et al. 1979). Nos résultats sont en contradiction avec ceux de WIEGEL et al. (1978) qui considèrent que *X. autotrophicus* n'utilise pas l'oxalate. En fait, parmi les souches que nous avons testées figuraient deux des souches étudiées par ces auteurs (7C = DSM 432, souche type, ainsi que 14g = DSM 431) et toutes deux ont manifesté une bonne croissance sur l'oxalate. Signalons que *X. autotrophicus* est également un fixateur d'azote et un méthylo-trophe facultatif, étant apte à utiliser le méthanol comme seule source de carbone et d'énergie.

Le rendement de la croissance de la souche TA 4 est faible, mais il est comparable à celui obtenu chez d'autres souches (tableau VI). N'oublions pas que chaque molécule d'oxalate ne fournit qu'une seule paire d'électrons à la chaîne respiratoire (les hexoses en fournissent six) et que, vu le degré d'oxydation élevé de cette substance, son assimilation implique une importante consommation d'énergie et de pouvoir réducteur.

TABLEAU VI

*Rendement de la croissance (pour l'oxalate)  
chez quelques bactéries « oxaliques »*

Organisme	$Y_m$ (g/Mole)	références
<i>Pseudomonas oxalaticus</i>	3,80	DIJKHUIZEN et al. (1977)
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	3,90	FRIEDRICH et al. (1979)
<i>Thiobacillus novellus</i>	2,95	CHANDRA et SHETHNA (1877)

## Remerciements

Les D<sup>rs</sup> Belser et Glattli, du Laboratoire de microbiologie laitière de la Station fédérale de recherches de Berne-Liebefeld, ont mis aimablement à notre disposition un incubateur à gradient thermique. Nous leur exprimons ici notre reconnaissance.

---

## Résumé

Huit souches de bactéries « oxaliques » ont été isolées à partir d'échantillons de sol. Elles ont été décrites sur la base de 81 caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques. On en distingue deux groupes. Le premier comprend des souches pigmentées en rose et à croissance lente, appartenant probablement à l'espèce *Vibrio extorquens*. Le second rassemble des espèces non pigmentées, à croissance plus rapide, affines à *Pseudomonas oxalaticus* et à *Alcaligenes eutrophus*. En outre, trois espèces d'hydrogénobactéries: *Alcaligenes eutrophus*, *A. paradoxus* et *Xanthobacter autotrophicus* sont à même d'utiliser l'oxalate comme seule source de carbone et d'énergie.

## Zusammenfassung

Acht Stämme von Oxalat-benützenden Bakterien wurden aus Bodenproben isoliert, und mit 81 morphologischen, physiologischen und biochemischen Merkmalen charakterisiert. Sie bildeten zwei Gruppen: die eine enthielt rosa gefärbte, langsam wachsende Stämme, die wahrscheinlich der Art *Vibrio extorquens* angehören; die andere umfasste unpigmentierte, schneller wachsende Stämme mit möglichen Beziehung zu *Pseudomonas oxalaticus* und *Alcaligenes eutrophus*. Ausserdem wurde bei drei Knallgasbakterien (*Alcaligenes eutrophus*, *A. paradoxus* und *Xanthobacter autotrophicus*) die Fähigkeit nachgewiesen, mit Oxalat als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle zu wachsen.

## Summary

*Isolation, characterization and tentative identification of bacteria growing on oxalate as sole carbon and energy source*

Eight strains of oxalate-utilizing bacteria were isolated from soil samples. They were characterized with 81 morphological, physiological and biochemical features. They appeared grouped in two clusters. One comprised pink-pigmented, slowly growing strains probably belonging to *Vibrio extorquens*. The other comprised unpigmented, faster-growing strains related to *Pseudomonas oxalaticus* and to *Alcaligenes eutrophus*. Moreover, three species of hydrogen-oxidizing bacteria, i.e. *Alcaligenes eutrophus*, *A. paradoxus* and *Xanthobacter autotrophicus* were able to utilize oxalate as sole carbon and energy source.

---

BIBLIOGRAPHIE

- ANTHONY, C. et ZATMAN, L.J. — (1964). The microbial oxidation of methanol. 1. Isolation and properties of *Pseudomonas* sp. M 27. *Biochem. J.* 92:609-614.
- ARAGNO, M. et SCHLEGEL, H.G. — (1980). The hydrogen-oxidizing bacteria. In: STARR, M.P., STOLP, H., TRÜPER, H.G., BALOWS, A. et SCHLEGEL, H.G. (éd.) — *The Prokaryotes: a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Heidelberg* (Springer Verlag) (sous presse).
- ARAGNO, M., WALTHER-MAURUSCHAT, A., MAYER, F. et SCHLEGEL, H.G. — (1977). Micromorphology of Gram-negative hydrogen bacteria. I. Cell morphology and flagellation. *Arch. Microbiol.* 114:93-100.
- BASSALIK, K. — (1913). Über die Verarbeitung der Oxalsäure durch *Bacillus extorquens* n. sp. *Jahrb. wiss. Bot.* 53:255-302.
- BHAT, J. V. — (1966). Enrichment culture technique. *J. Scient. Ind. Res. New Dehli* 25: 450-454.
- BHAT, J.V. et BARKER, H.A. — (1948). Studies on a new oxalate-decomposing bacterium, *Vibrio oxalaticus*. *J. Bacteriol.* 55:359-368.
- BLACKMORE, A.M. et QUAYLE, J.R. — (1970). Microbial growth on oxalate by a route not involving glyoxylate carboligase. *Biochem. J.* 118:53-59.
- BUCHANAN, R.E. et GIBBONS, N.E. — (1974). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 1246 pp., Baltimore (Williams & Wilkins Co).
- CHANDRA, T.S. et SHETHNA, Y.I. — (1975). Isolation and characterization of some new oxalate-decomposing bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 41:101-111.
- (1977). Oxalate, formate, formamide and methanol metabolism in *Thiobacillus novellus*. *J. Bacteriol.* 131:389-398.
- DIJKHUIZEN, L., WIERSMA, M. et HARDER, W. — (1977). Energy production and growth of *Pseudomonas oxalaticus* Oxl on oxalate and formate. *Arch. Microbiol.* 115:229-236.
- FRIEDRICH, C., BOWIEN, B. et FRIEDRICH, B. — (1979). Formate and oxalate metabolism in *Alcaligenes eutrophus*. *J. Gen. Microbiol.* 115:185-192.
- HOLDING, A.J. et COLLEE, J.G. — (1971). Routine biochemical tests. In: NORRIS, J.R. et RIBBONS, D.W. (éd.): *Methods in Microbiology* 6A: 1-32. *Londres et New York* (Acad. Press).
- JAYASURIYA, G.C.N. — (1955). The isolation and characteristics of an oxalate-decomposing organism. *J. Gen. Microbiol.* 12:419-428.
- KHAMBATA, S.R. et BHAT, J.V. — (1953). Studies on a new oxalate-decomposing bacterium, *Pseudomonas oxalaticus*. *J. Bacteriol.* 66:505-507.
- MEHTA, R.J. — (1973). Studies on methanol-oxidizing bacteria. I. Isolation and growth studies. *Antonie van Leeuwenhoek* 39:295-302.
- MÜLLER, H. — (1950). Oxalsäure als Kohlenstoffquelle für Mikroorganismen. *Arch. Mikrobiol.* 15:137-148.

- PEEL, D. et QUAYLE, J.R. — (1961). Microbial growth on C<sub>1</sub> compounds. 1. Isolation and characterization of *Pseudomonas* AM 1. *Biochem. J.* 92:609-614.
- QUAYLE, J.R., KEECH, D.B. et TAYLOR, G.A. — (1961). Carbon assimilation by « *Pseudomonas oxalaticus* » (OX1). 4. Metabolism of oxalate in cell free extracts of the organism grown on oxalate. *Biochem. J.* 78:225-236.
- SNEATH, P.H.A. et SOKAL, R.R. — (1973). Numerical taxonomy. 573 pp., *San Francisco* (Freeman & Co).
- SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS — (1957). Manual of microbiological methods. 315 pp., *New York* (McGraw-Hill).
- STARKEY, R.L. — (1935). Isolation of some bacteria which oxidize thiosulfate. *Soil Sci.* 39:197-219.
- STOCKS, P.K. et McCLESKEY, C.S. — (1964). Identity of the pink-pigmented methanol-oxidizing bacteria as *Vibrio extorquens*. *J. Bacteriol.* 88:1065-1070.
- THOMAS, P. — (1936). Manuel de Biochimie. *Paris* (Masson).
- URBANUS, J.F.L.M., VAN DEN ENDE, H. et KOCH, B. — (1978). Calcium oxalate crystals in the wall of *Mucor mucedo*. *Mycologia* 70:829-842.
- WALTHER-MAURUSCHAT, A., ARAGNO, M., MAYER, F. et SCHLEGEL, H. G. — (1977). Micromorphology of Gram-negative hydrogen bacteria. II. Cell envelope, membranes and cytoplasmic inclusions. *Arch. Microbiol.* 114:101-110.
- WIEGEL, J., WILKE, D., BAUMGARTEN, J., OPITZ, R. et SCHLEGEL, H.G. — (1978). Transfer of the nitrogen-fixing hydrogen bacterium *Corynebacterium autotrophicum* Baumgarten et al. to *Xanthobacter* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 28:573-581.