

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES MICROORGANISMES MARINS ANAÉROBIES STRICTS

II. — Bactéries ammonifiantes anaérobies isolées du fond de la Mer noire, au niveau de la Station zoologique marine « Prof. I. Borcea » d'Agigea (Dobroudja)

par Mircea ZARMA

Les recherches sur l'appartenance spécifique des microorganismes de la Mer noire (3, 4, 6, 7, 8, 11, 12, 13) sont nombreuses, en comparaison avec les recherches similaires sur les bactéries des autres mers. La plupart de ces recherches ont été effectuées par des microbiologistes soviétiques et se réfèrent presque en totalité aux bactéries hétérotrophes aérobies. Par contre, les bactéries hétérotrophes anaérobies de la Mer noire sont demeurées inconnues, à l'exception de quelques données sur les bactéries sulfato-réductrices (2). Tenant compte de cette situation et, en général, des connaissances réduites sur les anaérobies marins (10), nous avons entrepris la présente étude.

A partir d'un échantillon de vase, prélevé le 13 juillet 1958, devant la Station zoologique marine « Prof. I. Borcea » d'Agigea, nous avons isolé six souches bactériennes. Leur étude, effectuée par la même méthode que celle employée dans un travail antérieur portant sur les anaérobies de la Mer noire (13), a montré que ces microorganismes sont presque identiques. Basés sur leur caractère, nous décrivons dans ce qui suit, une nouvelle espèce bactérienne.

Clostridium catenaforme n.sp.

Morphologie.

Après 24 h, à 33°C, sur milieu V.F. au sel marin 16 ‰, des bâtonnets Gram-positifs, sporulés, droits, aux extrémités arrondies de 0,8 - 3,1 microns variant dans les limites de 1,6 à 6,2 × 0,8 à 1,2 microns (1), présentant des granulations iodophiles. Les bactéries sont mobiles, péritriches, ayant des cils longs et nombreux. La spore est ovale, centrale ou excentrique, ayant de 0,7 à 0,8 × 0,9 à 1,2 microns et déforme légèrement la cellule bactérienne. Rares bactéries isolées ou en paires. La plupart sont groupées en chaînes de plus de 20 bâtonnets. Dans les vieilles cultures, les bactéries s'autolysent et l'aspect microscopique montre de nombreuses spores libres.

Cultures.

Colonies.

Bouillon gélosé en tubes Weinberg : colonies sphériques ouatées, non-pigmentées, ayant un diamètre de 5 mm, après 24 h à 33° C. Elles diffusent un pigment jaune-verdâtre dans le milieu de culture.

(1) La souche n° 6 présente aussi des bâtonnets non-sporulés, jusqu'à 11 microns de longueur.

Milieux liquides.

Bouillon : fortement trouble, dépôt abondant floconneux, pellicule sur l'éprouvette, odeur putride.

Eau peptonée 10 ‰ : faibles cultures, trouble très faiblement et uniformément, dépôt faible.

Physiologie.

Respiration : anaérobie obligatoire.

Résistance à la chaleur : les spores résistent 10 minutes à 82°C; elles sont tuées à 82°C après 20 minutes.

Comportement à la salinité : on obtient des cultures sur les milieux au sel marin en concentration de 16 ‰ et sur des milieux usuels.

Caractères biochimiques.

Activité protéolytique : médiocre.

Lait au tournesol : alcalinisation et peptonisation lente. Gélatine : liquéfaction ; faible production de gaz. Sérum coagulé : digéré. Blanc d'œuf coagulé : non digéré. Viande : ne digère pas les morceaux de viande. Ammoniaque : fortement produit. Hydrogène sulfuré : non produit. Indol : produit.

Activité de fermentation : forte.

Provoque la fermentation de l'arabinose, du xylose, de la galactose, du glucose, du fructose, du saccharose (1), du maltose, du lactose, du mélétose, de l'amidon, de la dextrine, du mannitol (2), du sorbitol, du dulcitol et du glycérol.

Provoque une faible fermentation du rhamnose et de l'inuline.

Ne provoque pas la fermentation de la cellulose et de la pectine.

Autres propriétés biochimiques.

Nitrates : non réduits. Azote moléculaire : non assimilé.

Pouvoir pathogène : nul (pour la souris et le cobaye).

Habitat : La vase de la Mer noire, près d'Agigea.

Classification.

Les clefs de détermination (1, 5, 9) nous rapprochent de la forme *Clostridium acetobutylicum* McCLOY, FRED, PETERSON et HASTINGS. Mais nos souches se distinguent de *Clostridium acetobutylicum* par les cellules groupées en longues chaînes, leurs colonies sphériques ouatées, la faible gazogénèse, le fait de ne pas coaguler le lait, la production d'indol et leur incapacité de fixer l'azote moléculaire.

De nombreux caractères communs existent entre nos souches et le *Clostridium lactoacetophilum* BLAT et BARKER 1947. Toutefois, elles se distinguent de cette espèce par le groupement en chaînes des cellules, la production d'indol, l'incapacité de produire de l'hydrogène sulfuré, la faible fermentation du rhamnose et par la forte fermentation du glycérol.

(1) A l'exception de la souche n° 4.

(2) A l'exception des souches n° 3 et 4.

Par conséquent, en tenant compte des différences signalées, nous avons considéré nos souches comme représentant une nouvelle espèce. Cette espèce peut être intercalée dans la clef de PRÉVOT (9, p. 149) comme suit :

— 9. Colonies ouatées, cellules groupées en longues chaînes, faible gazogène, gélatine liquéfiée, n'attaque pas la cellulose, indologène, n'assimile pas l'azote moléculaire...

Clostridium catenaforme n. sp.

Conclusions.

En continuant les études entreprises en 1957 sur les bactéries marines anaérobies strictes, nous avons isolé six souches bactériennes à partir de la vase de la Mer noire, près d'Agigea. Ces souches se sont montrées douées des caractères presque identiques, se rapprochant de *Clostridium acetobutylicum* et de *Clostridium lactophilum*. En tenant compte des différences d'importance taxonomique qui séparent les bactéries des espèces ci-dessus mentionnées, nous avons considéré nos souches comme représentant une nouvelle espèce : *Clostridium catenaforme* n. sp. Par leur capacité de produire l'ammoniaque aux dépens de la matière protéique, les bactéries de cette espèce contribuent au circuit de l'azote dans la Mer noire.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) BAALSrud (K.), 1954. — Autotrophe Microorganisms. — *The fourth Symp. of the Sea for gen. Microb.*, **54**.
- 2) BEIJERINK (M.W.), 1904. — *Ctbltt. f. Bakt.*, II Abt., **11** : 593.
- 3) BREED (R.S.), MURRAY (E.G.D.) et SMITH (N.R.), 1957. — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7-th Ed., 912 p., B.
- 4) FEODOROV (M.N.), 1957. — *Mikrobiologia solului*, 424 p., B.
- 5) ISSATCHENKO (B.L.), 1951. — *Izbr. Tr.*, **1** : 111.
- 6) — 1951. — *Izbr. Tr.*, **1** : 108.
- 7) ISSATCHENKO (B.L.) et SELIMOVSKAIA (A.), 1951. — *Izbr. Tr.*, **1** : 176.
- 8) KOPP (F.I.), 1948. — *Tr. Sevast. Biol. St.*, **6** : 298.
- 9) KOUSNÉTZOV (S.I.), 1952. — *Role mikroorganizmov v krougovorete vechstv v oserab.*, 300 p., M.
- 10) KRASSILNIKOV (N.A.), 1949. — *Opredeliteli bakterii i aktinomitzetov*, 830 p., M-L.
- 11) KRISs (A.E.), 1952. — *Usp. Sov. Biol.*, **34** (2), 5 : 194.
- 12) — 1954. — *Vestnik A.N.S.S.S.R.*, **8** : 22.
- 13) KRISs (A.E.) et ROUKINA (E.A.), 1952. — *Izv. A.N. S.S.S.R., Ser. Biol.*, **6** : 67.
- 14) — 1949. — *Mikrobiologia*, **18** : 402.
- 15) OSNITSKAIA (L.K.), 1953. — *Mikrobiologia*, **22** : 399.
- 16) PRÉVOT (A.R.), 1948. — *Manuel de classification et de détermination des bactéries anaérobies*, 290 p., P.
- 17) RODINA (A.G.), 1956. — *Jizn. presnib vod. S.S.S.R.*, **4** : 7.
- 18) SOROKIN (I.I.), 1958. — *Analele Rom.-Sov., Ser. Biol.*, **1** : 58.
- 19) TRAUTWEIN (K.), 1921. — *Ctbltt. f. Bakt.*, II Abt., **53** : 513.
- 20) — 1924. — *Ctbltt. f. Bakt.*, II Abt., **61** : 1.
- 21) WOODWARD (R.L.), 1957. — *J. Am. Water Works Assoc.*, **49** : 1060.

