

RECHERCHES
SUR
LES BACTÉRIES PECTINOLYTIQUES
DES LACS DU RUWENZORI ET DES VIRUNGA

PAR

PAUL KAISER (Paris)

Les échantillons de sédiments des lacs du Massif du Ruwenzori, rapportés par H. MOLLARET et J. DE HEINZELIN DE BRAUCOURT au cours de leurs expéditions de 1956 (1) et de 1958, ont fait l'objet d'une étude sur la pectinolyse.

La numération, la description et l'étude du pouvoir pectinolytique de ces germes seront publiées prochainement dans une Thèse.

Les germes aérobies pectinolytiques sont isolés grâce au milieu de Wieringa modifié (2), les germes anaérobies pectinolytiques cultivés sur milieu sélectif en tubes scellés (2) sont isolés par la technique classique des géloses profondes (3). Seules, les bactéries ont été isolées et déterminées.

LAG DOMINIQUE.

Échantillons :

03/9 (1956). — Sédiment en rive du lac, en aval, boue brune, lourde.

Pectinolyse aérobie : champignons.

Pectinolyse anaérobie : *Clostridium polymyxa*.

03/15 (1956). — Sédiment en rive du lac, en aval, boue brun noirâtre, sableuse.

Pectinolyse aérobie : *Empedobacter pectinovorum* (= *Flavobacterium pectinovorum*) (4) + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : faible, non isolé.

03/23 (1956). — Sédiments superficiels en rive du lac, prélevés dans une zone asséchée superficiellement. Boue brun noirâtre, sableuse.

Pectinolyse aérobie : *Empedobacter pectinovorum* + Actinomycètes.
 Pectinolyse anaérobie : *Clostridium* 314, de SUGAMA.

03/39 (1956). — Vase brune, légère, prélevée sous 50 cm d'eau dans l'émergence de la source d'alimentation.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.
 Pectinolyse anaérobie : nulle.

03/41 (1956). — Vase brune, homogène, prélevée au même endroit que 03/39.

Pectinolyse aérobie : faible : bactéries, Actinomycètes, champignons.
 Aucun germe isolé.

Pectinolyse anaérobie : faible, non isolé.

LAG MARION.

Échantillons :

04/36 (1956). — Vase compacte prélevée sous 50 cm d'eau au centre du lac.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.
 Pectinolyse anaérobie : faible, non isolé.

05/20 (1956). — Vase brune, homogène, prélevée en rive du lac superficiellement.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.
 Pectinolyse anaérobie : *Clostridium laniganii*.

05/40 (1956). — Prélèvement sous-jacent à 05/20. Vase homogène, brun-rouille.

Pectinolyse aérobie : *Empedobacter pectinovorum*, *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.
 Pectinolytique anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

06/11 (1956). — Vase brun grisâtre, légère, mélangée à un sable gris très fin, prélevée à l'embouchure du torrent alimentant le lac.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.
 Anaérobie pectinolytique : *Plectridium pectinovorum*.

06/33 (1956). — Sédiment identique à 06/11.

Pectinolyse aérobie et anaérobie nulle.

08/7 (1956). — Sédiment rougeâtre, d'aspect ferrugineux, prélevé près du rivage.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + champignons.
 Pectinolyse anaérobie : nulle.

08/30 (1956). — Échantillon desséché et souillé. Non analysé.

LAC DE LA LUNE.

Échantillons :

09/3 (1956). — Boue brune, mélangée à des débris végétaux, prélevée en bordure du lac.

Pectinolyse aérobie : *Pseudomonas boreopolis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : négative.

09/5 (1956). — Vase brune, organique, ligneuse, avec graviers prélevés par 13 m de fond.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

09/21 (1956). — Vase brune, homogène, prélevée à 7 m de fond.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

09/22 (1956). — Vase et sédiments végétaux prélevés par 14 m de fond.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

09/43 (1956). — Sédiment à fleur d'eau prélevé à côté d'une grève sableuse.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

LACS BLANGS.**Lac Blanc supérieur.**

Échantillons :

15/16 (1956). — Vase gris verdâtre, argileuse + débris végétaux.

Pectinolyse aérobie : *Empedobacter pectinovorum*.

Pectinolyse anaérobie : négative.

15/39 (1956). — Vase gris verdâtre, argileuse, compacte, prélevée sous 10 cm d'eau.

La pectinolyse est négative aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose.

71 (1958). — Sédiment gris verdâtre, argileux, homogène, du lit du lac.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

Lac Blanc principal.

Échantillons :

16/38 (1956). — Vase argileuse, compacte, lourde, prélevée sous 30 cm d'eau.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.

En anaérobiose : *Clostridium polymyxa*.

16/49 (1956). — Vase argileuse, compacte, lourde, sous-jacente à 16/38.

Pectinolytique aérobie : *Empedobacter* nov. sp. + Actinomycètes.

Pectinolytique anaérobie : *Clostridium laniganii*.

45 (1958). — Mousse brune avec terre argileuse prélevée sur une pierre sous l'eau.

Pectinolyse aérobie : champignons.

Pectinolyse anaérobie : faible, espèce non isolée.

GLACIER STANLEY OCCIDENTAL.

Échantillons :

14/49 (1956). — Sédiment vert-gris, argileux, prélevé sous glace.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis*.

Pectinolyse anaérobie : négative.

14/46 (1956). — Sédiment identique à 14/49.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : négative.

LAC GRIS.

Échantillons :

18/17 (1956). — Sédiment superficiel, boue lourde, argileuse, vert-gris, entremêlée de radicelles.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes et champignons.

Pectinolyse anaérobie : *Clostridium* nov. sp. espèce nouvelle voisine de *Clostridium pectinolyticum*.

18/26 (1956). — Sédiment superficiel voisin de 18/17.

Pectinolyse aérobie : faible, bactérienne, souche non isolée.

Pectinolyse anaérobie : germe non isolé.

79 (1958). — Sédiment du rivage, boue argileuse, lourde, vert-gris.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

LAC VERT.

Échantillons :

12/10 (1956). — Vase brun-gris, légère, prélevée sous 30 cm d'eau.

Pectinolyse aérobie : bactérienne (non isolé). Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Clostridium polymyxa*.

Les 5 sédiments suivants constituent 5 couches se superposant. Elles se situent en rive du lac sous 30 cm d'eau :

12/32

12/38

12/14

12/16

12/12

12/32 (1956). — Vase verte, argileuse, avec débris végétaux.

Pectinolyse aérobie : Bactérie : *Bacillus subtilis*, *Angiococcus disciformis* (Myxobactérie), la souche conservée en glacière n'est plus viable + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

12/38 (1956). — Vase brune et sable noir.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

12/14 (1956). — Vase vert-gris et sable noir fin.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter butyri* (variété) (*Achromobacter butyri* BERGEY) + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : faible, non isolée.

12/16 (1956). — Vase vert-brun et sable fin noir.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + quelques champignons.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

12/12 (1956). — Sédiment argileux vert-gris.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

78 (1958). — Sable gris et débris végétaux, prélevés en bordure du rivage.

Pectinolyse aérobie : Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

LAG NOIR.

Échantillons :

24/1 (1956). — Boue brune, organique, ligneuse, prélevée sous l'eau à 7,50 m entre les points C et D.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis*, *Empedobacter pectinovorum*.
 Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

24/7 (1956). — Vase brune prélevée à l'embouchure du torrent d'alimentation.

Pectinolyse aérobie : *Empedobacter pectinovorum*.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

Les échantillons 24/40, 24/8, 24/3 forment 3 couches superposées :

24/40
24/8
24/3

Ces échantillons sont constitués essentiellement de graines de *Carex* peu décomposées.

24/40 (1956).

Pectinolyse aérobie : *Vibrio* nov. sp. (à l'étude) + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

24/8 (1956).

Pectinolyse aérobie : *Empedobacter pectinovorum*, *Acinetobacter metalcaligenes* (*Alcaligenes metalcaligenes* BERGYE) + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

24/3 (1956).

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

42 (1958). — Terre sous mousse, brune, prélevée en bordure du rivage.

Pectinolyse aérobie : *Empedobacter* nov. sp., *Pseudomonas schuyllkylensis*.

Pectinolyse anaérobie : faible, souche non isolée.

49 (1958). — Terre brune, légère, avec débris végétaux prélevée en bordure du rivage.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + champignons.

Pectinolyse anaérobie : faible, souche non isolée.

48 (1958). — Terre brune et débris végétaux prélevée sous mousse en rive du lac.

Pectinolyse aérobie : champignons.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

44 (1958). — Terre légère, brun-noir, avec radicelles, prélevée en bordure du rivage.

Pectinolyse aérobie : *Pseudomonas schuykilliensis*, *Empedobacter dormitator* (*Flavobacterium dormitator* BERGEY), *Bacillus subtilis* + champignons.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

LAG GATHERINE.

Échantillons :

17/48 (1956). — Sédiment rougeâtre prélevé au bord du rivage en amont du lac.

Pectinolyse aérobie : *Pseudomonas boreopolis*, *Empedobacter pectinovorum*.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

17/50 (1956). — Boue floconneuse, brun-rouge, légère, prise sous 20 cm d'eau.

Pectinolyse aérobie : *Angiococcus disciformis*, *Bacillus subtilis*.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

17/44 (1956). — Couche sous-jacente à 17/50. Boue brune, légère, floconneuse.

Pectinolyse aérobie et anaérobie nulle.

40 (1958). — Vase brune légère prélevée au rivage.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

41 (1958). — Sable et graviers prélevés au rivage.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

46 (1958). — Vase vert-gris composée surtout d'algues, prélevée au rivage.

Pectinolyse aérobie : *Pseudomonas sauromali* (*Bacillus sauromali*, BERGEY, 6°), *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

LAGS KITANDARA (1958).

Inférieur.

Échantillons :

47. — Boue verdâtre argileuse avec algues et débris végétaux, prélevée au bord du lac.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

74. — Boue brun-gris légère homogène prélevée au rivage.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis*.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*, *Clostridium* identique à la souche 314 de SUGAMA.

Supérieur.

Échantillon :

72. — Vase légère, brun-rouge, homogène, prélevée au rivage.

Pectinolyse aérobie : *Achromobacter sewerinii*.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

**PRÉLÈVEMENTS EFFECTUÉS
EN DEHORS DU MASSIF DU RUWENZORI (1958).**

LAC DU VISOKE (Volcan).

Échantillons :

118 A. — Boue homogène, légère, brune, prélevée au bord du lac.

Pectinolyse aérobie : *Achromobacter venenosum*.

Pectinolyse anaérobie : *Clostridium laniganii*.

118 B. — Boue brune, fine, homogène, prélevée au fond du lac au point le plus profond.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis* + Actinomycètes.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

NYAMURAGIRA (Volcan) (1958).

Échantillons :

109. — Amas d'algues qui poussent sur le sol dans le fond du cratère.

Pectinolyse aérobie : faible, non isolée.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

108 M. — Mousse avec débris de terre brune poussant sur les flancs du volcan.

Pectinolyse aérobie : champignons.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

108 G1. — Sable, gravier et grains de soufre prélevés dans un solfatare du volcan.

Pectinolyse aérobie et anaérobie : nulle.

108 S. — Identique à 108 G1.

Pectinolyse aérobie et anaérobie : nulle.

SOURCES CHAUDES DE MAY-YA-MÔTO (94 °C) (1958).

Échantillons :

121 A. — Boue sableuse, fine, brun-gris.

Pectinolyse aérobie : nulle.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

121 B. — Amas d'algues et de boue, forte odeur d'H₂S.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis*.

Pectinolyse anaérobie : nulle.

121 C. — Amas d'algues et de boue.

Pectinolyse aérobie : *Bacillus subtilis*.

Pectinolyse anaérobie : *Plectridium pectinovorum*.

Les germes ne sont évidemment pas actifs à une telle température. Avec H. MOLLARET, nous avons constaté que les cultures restaient stériles au-dessus de 50° C, alors que la croissance était abondante à 30° C. Ce fait curieux reste encore inexpliqué.

CONCLUSIONS.

La microflore pectinolytique de ces lacs de haute montagne peut être considérée comme « microflore originelle » selon la notion de A.-R. PRÉVOT. Les germes étudiés sont pour la plupart tous connus, mis à part une espèce anaérobie et trois aérobies.

La fonction pectinolytique n'était pas connue chez tous les germes déterminés, mais dans l'ensemble, nous pouvons dire que la pectinolyse est assurée par les mêmes germes dans les lacs du Ruwenzori que dans les terres et les boues européennes.

En effet, beaucoup de bactéries bien connues pour leur fonction pectinolytique dans les sols européens ont été retrouvées au Ruwenzori.

Bacillus subtilis, cité le plus fréquemment dans ce catalogue, est isolé de façon régulière dans les lacs et les sédiments européens.

Empedobacter pectinovorum (*Flavobacterium pectinovorum* DOREY) (4) a été trouvé récemment dans les sols d'Écosse et d'Angleterre. Cette espèce, fort répandue au Ruwenzori, fait donc partie de la microflore originelle.

Toutefois, il n'est pas le seul *Empedobacter* pectinolytique puisque *E. dormitator* et deux espèces nouvelles ont été isolés également (toutes trois se rencontrent aussi dans les échantillons européens).

Plus rarement, d'autres aérobies contribuent à la pectinolyse de ces sédiments. Leur fonction pectinolytique n'était pas connue : *Pseudomonas schuyllkylensis*, *Ps. sauromali* (*Bacillus sauromali*, BERGEY, 6^e édition, non mentionné dans la 7^e), *Pseudomonas boreopolis*.

Parmi le genre *Achromobacter* et *Acinetobacter*, notons la présence des enzymes pectinolytiques chez *Acin. butyri*, *Achromobacter metalcaligenes*, *Achr. sewerini*, *Achr. venenosum*.

Ces germes ont été réétudiés par J. BRISOU récemment (5), ce qui facilite beaucoup leur détermination.

La famille des *Pseudomonadaceae* avec les genres *Empedobacter*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, se trouve donc être une des plus riches en espèces pectinolytiques.

Avant de clore la liste des germes aérobies, citons une espèce nouvelle de *Vibrio* et deux souches de Myxobactéries : *Angiococcus disciformis*. Malheureusement, ces souches, bien que conservées en glacière à 1° C ne sont plus viables.

Les Actinomycètes, très fréquents, viennent compléter le pouvoir pectinolytique aérobie de ces sédiments.

Les bactéries anaérobies isolées appartiennent toutes au groupe des pectinolytiques stables incolores. Dans le groupe des *Clostridium* sous-genre *Clostridium aurantibutyricum*, nous trouvons sporadiquement *Cl. laniganii*. Ce *Clostridium* provient du rouissage du lin australien (6).

Deux souches (74' et 03/23) sont identiques au *Clostridium* souche n° 314 de SUGAMA (7) primitivement isolé au Japon et retrouvé en France par nous-même. Ce germe est actuellement encore à l'étude et fera l'objet d'une publication ultérieure.

Enfin, la présence d'une nouvelle espèce de *Clostridium* pectinolytique, bactérie très voisine de *Cl. pectinolyticum*, vient accroître la liste des anaérobies pectinolytiques tous très proches les uns des autres.

Nous avons isolé en grand nombre *Plectridium pectinovorum*. Il joue un rôle considérable dans la fonction pectinolytique des boues de lacs de haute montagne.

En résumé, 89 souches de bactéries pectinolytiques ont été isolées; 34 de ces souches sont des bactéries pectinolytiques anaérobies, 24 appartenant à *Plectridium pectinovorum*. Les 55 autres souches sont des pectinolytiques aérobies; 25 de ces souches sont déterminées comme *Bacillus subtilis*.

Ce travail a été réalisé grâce à une subvention du « Fonds Belge d'Interventions Sociales et Scientifiques » qui nous a accordé une bourse de recherche et de nombreux instruments de laboratoire.

Nous remercions très vivement le Prof^r V. VAN STRAELEN qui nous a obtenu ces moyens de travail.

INSTITUT PASTEUR,
SERVICE DES ANAÉROBIES (Paris).

BIBLIOGRAPHIE.

- (1) MOLLARET, H. & DE HEINZELIN DE BRAUCOURT, J., 1956, Biotopes de haute altitude. Ruwenzori I (*Explor. du Parc Nat. Albert*, 2^e série, fasc. 3, Bruxelles).
 - (2) KAISER, P. & PRÉVOT, A.-R., 1958, *C. R. Acad. Sciences*, t. 247, pp. 1065-1067.
 - (3) PRÉVOT, A.-R., 1960, Techniques pour le diagnostic des bactéries anaérobies, Edition de la Tourelle, Paris.
 - (4) DOREY, M. J., 1959 (*J. of Gen. Microbiol.*, vol. 20, n^o 1, p. 91).
 - (5) BRISOU, J., 1958, Étude de quelques *Pseudomonadaceae* (Thèse).
 - (6) LANIGAN, G. W., 1951, *Australian J. Sc. Research*, B, 4, pp. 461-486.
 - (7) SUGAMA, S. et DOI, S., 1960, *C. R. Soc. Biol.*, t. 154, p. 874.
-