

ÉTUDE SUR L'HALOPHILIE DES BACTÉRIES ISOLÉES DU MILIEU MARIN

par J. BRISOU et H. VARGUES

La sensibilité des bactéries à la salinité du milieu permet, assez empiriquement d'ailleurs, d'en distinguer un certain nombre de catégories.

On a choisi pour limiter ces groupes des teneurs en NaCl étalées de 0 à 30 %. Sur ces bases, on considère que les microbes non halophiles cultivent de préférence à des salinités inférieures à 2 %. Viennent ensuite les microbes faiblement halophiles dont l'optimum de croissance se situe entre 2 et 5 % de NaCl, les modérément halophiles qui préfèrent des teneurs en sel allant de 5 à 20 % et enfin les hyperhalophiles pour lesquels il faut des milieux contenant de 20 à 30 % de sel.

On estimera d'emblée que les limites de salinité sont toujours assez espacées, puisque les bactéries halophiles modérées se situent par exemple entre 5 et 20 %. Il n'y a pas de frontières tranchées entre ces catégories. On peut ajouter qu'il existe un certain nombre de microbes indifférents qui s'accommodent aussi bien de milieux doux que de milieux salés.

L'étude que nous présentons ne concerne que des bactéries isolées du milieu marin. Elles appartiennent à la catégorie des bactéries faiblement halophiles. La teneur moyenne du milieu marin étant de 3,5 % c'est à cette valeur que se situe le maximum de croissance de la majorité des germes isolés de la mer. Nous l'avons montré après un certain nombre d'autres auteurs qui se sont attachés à la physiologie des bactéries marines.

On sait d'autre part que les bactéries marines appartenant à la catégorie des halophiles strictes (car il en est aussi de facultatives) tolèrent mal les salinités inférieures à celle de l'eau de mer. Elles sont plus que d'autres sensibles aux variations de concentrations salines.

Nous avons choisi comme sujet d'investigation le comportement de ces germes halophiles stricts ou halophiles facultatifs en présence d'un certain nombre de sels de sodium d'acides organiques et n'avons considéré que les processus de décarboxylation oxydative qualitatifs.

Protocole expérimental.

Toutes les expériences ont été réalisées avec des souches pures isolées en Atlantique et en Méditerranée (C. TYSSER) provenant tantôt de l'eau de mer puisée au large, d'eaux profondes, d'eaux littorales, tantôt de poissons, de coquillages, du plancton.

Le total des souches mises en expérience s'élève à 395. Pour chacune d'elle il a été réalisé 18 épreuves biochimiques : 9 en eau douce, 9 en eau de mer. La statistique obtenue porte donc sur un ensemble de 7110 réactions. Sur ces 395 souches, 3 n'ont donné lieu à aucune réaction oxydative décelable.

La technique d'étude entre dans le cadre de ce que l'un de nous a décrit sous le terme d'instantané enzymatique dont le détail a été exposé dans la thèse de BRULÉ.

Comme substrats de routine nous avons utilisé les sels de sodium des acides organiques les plus courants et qui seront dans l'ordre alphabétique les suivants : alginate, citrate, formiate, lactate, malate, malonate, mucate, pyruvate et tartrate. On reconnaît parmi ceux-ci quelques représentants du cycle tricarboxylique. Ils ont été bien entendu choisis à dessein.

La décarboxylation de ces acides se traduit en définitive par la formation de carbonate de Na et alcalinisation du milieu. Il est facile de la mettre en évidence par un indicateur de pH, le bleu de bromothymol par exemple. Il ne s'agit bien entendu que d'une réaction qualitative.

Résultats.

Les bactéries étudiées appartenait à des familles, genres et espèces variés : *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Erwinia*, *Serratia*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcus*, *Bacillus*,

plus rarement *Cytophaga* et *Sporocytophaga*. Il n'y avait comme on le voit que des aérobies. Le comportement biochimique fut sans aucun rapport avec la taxinomie de ces microbes. Dans tous les genres et les espèces nous avons rencontré des variétés halophiles strictes et des facultatives. Les réactions enzymatiques préférentielles se répartissaient dans tous les genres sans aucune prévalence de l'un sur l'autre.

Les premières remarques que peut suggérer cette expérimentation sont que l'alcalinisation de l'alginate, du pyruvate et du mucate fut fortement favorisée par la salinité. Quel que soit le germe : halophile strict ou non, la succession des pourcentages favorables à la salinité sont sensiblement les mêmes et occupent dans notre classement arbitraire les mêmes numéros soit 1, 2 et 3. Le fait est assez singulier pour être signalé.

Cet ordre de succession se modifie ensuite mais les décalages ne provoquent que des écarts modestes de 1 ou 2 numéros. Par contre les effets favorables du sel sont nettement plus élevés chez les bactéries halophiles obligatoires que chez les facultatives comme on pouvait du reste s'y attendre.

Nous savons par les travaux classiques que les bactéries marines appartiennent à la catégorie des espèces faiblement halophiles comme nous l'avons déjà dit au début de ce travail. Ces germes ne cultivent plus ou cultivent mal dans les milieux dont la salinité dépasse 5 % en NaCl. Leur croissance maxima se situe même à 3,5 % ou à des valeurs voisines. Ceci n'implique pas qu'en dehors de cet optimum les bactéries soient incapables de toute activité enzymatique. La croissance est du reste encore possible à 1,5 % et 4 % de NaCl.

On sait aussi d'autre part, que certaines bactéries isolées de produits pathologiques, du sol, des eaux douces, cultivent à la même vitesse en eau douce et en eau de mer peptonées. Il en est même qui s'accommodent mieux du milieu marin comme l'un de nous l'a montré à différentes reprises. Mais courbes de croissance et réactions enzymatiques ne suivent pas toujours des voies parallèles.

L'hétérogénéité des populations halophiles facultatives expliquerait l'aptitude de certaines à l'adaptation rapide au milieu salé et vice versa. Il s'agit sans doute d'une sélection des individus les plus aptes à vivre en milieu salé ou en milieu doux, par la simple action de l'environnement.

Conclusion.

L'étude qui vient d'être présentée donne quelques aspects de l'état d'halophilisme des bactéries isolées du milieu marin. Ce sont des bactéries faiblement halophiles, leur comportement vis-à-vis des sels de sodium d'acides organiques est très variable. Nous avons comparé les réactions en milieu salé et en milieu doux. L'halophilisme se conçoit comme un facteur individuel. Si certaines réactions de décarboxylation se déroulent plus volontiers en présence de sel à la concentration de l'eau de mer, d'autres se révèlent indifférentes à la salinité. Les différences tiennent davantage à la bactérie qu'à l'enzyme exception faite semble-t-il pour la décarboxylation de l'alginate, du pyruvate et du tartrate.

Les données fondamentales obtenues présentent un intérêt écologique et taxinomique indiscutable. Ils nous conduisent à imaginer que les souches dites halophiles obligatoires correspondent à des populations homogènes tandis que les souches halophiles facultatives pourraient être envisagées comme des populations hétérogènes, mélanges d'halophiles stricts et de non halophiles qui selon les modalités de culture imposeraient leur physionomie particulière à l'ensemble de la population.

Il ne s'agit là bien sûr que d'une hypothèse de travail suggérée par l'analyse de 7 110 épreuves biochimiques réalisées sur 395 souches étudiées parallèlement en milieux salés et en milieux non salés.