

Sur l'activité lipolytique de quelques bactéries marines

par

VIVIA BRUNI* et TERESA MAUGERI**

**Istituto di Idrobiologia dell'Università di Messina (Italie)*

***Istituto di Microbiologia dell'Università di Messina (Italie)*

Résumé

On a étudié l'activité lipolytique de dix espèces de bactéries marines. Les expériences ont été exécutées en employant des Tweens comme substrat, et précisément les monoesters (20, 40, 60, 80) pour les aliesterases : le Tween 85 (triester de l'acide oléique), la trioléine et la tributyrine pour la lipase. Le milieu employé a été la gélose nutritive en boîte de Petri pour les bactéries marines suivant ZOBELL, dans laquelle on avait incorporé les différents substrats.

Les résultats de ces expériences indiquent clairement que les bactéries marines essayées sont douées d'un pouvoir lipolytique, tant estérasique que lipasique.

Dans des milieux gélifiés, où l'eau de mer avait été remplacée par des solutions de NaCl 0,1, 0,5, 1 et 2,5 % et avec 0,01 % de CaCl₂, les ferments lipolytiques bactériens ont présenté un accroissement de leur efficacité jusqu'à la concentration de 1 %, tandis qu'à la concentration 2,5 % de NaCl on a remarqué une légère diminution.

Il est évident, encore une fois, que la complexité de la constitution chimique de l'eau de mer et la constance du rapport ionique sont des éléments indispensables au déroulement normal de l'activité métabolique des bactéries marines.

Summary

The lipolytic activity of ten species of marine bacteria has been studied. The employed substrates were Tweens 20, 40, 60 and 80 (monoesters) for the aliesterases, Tween 85 (triester of oleic acid), tributyrin and triolein for the lipase, incorporated in nutrient agar according to ZOBELL in Petri dish.

The results of the experiment carried, clearly indicated that the tested marine bacteria possess a lipolytic activity either esterase or lipase.

In agarized media, in which sea water has been replaced by NaCl solutions at gradual concentrations, the lipolytic bacterial enzymes in the presence of CaCl₂ 0,01 %, showed an increase of their activity starting from 0,1 % to 1 %, while the concentration of 2,5 %, showed as light decrease. It is stressed again that the complex chemical composition of sea water and the constant ionic correlation are strictly necessary for the normal metabolic activity of marine bacteria.

*
* * *

Depuis quelques années dans notre Institut d'Hydrobiologie on a entrepris l'étude de l'activité lipolytique de bactéries marines. Sans citer les premières recherches qui ont révélé cette activité chez les bactéries dans un milieu marin, on veut rappeler ici les récentes études de l'école de BRISOU [1969]. Le but de cette recherche a été de mettre en évidence chez quelques espèces de bactéries sûrement marines, leur activité lipolytique.

Techniques

L'hydrolyse des substrats (Tweens 20, 40, 60, 80 pour les aliestérasés; tween 85, trioléine et tributyrine pour la lipase) a été poursuivie selon la méthodologie mise au point dans cet Institut par BRUNI & RUSSO [1968], à laquelle on renvoie. On juge convenable de souligner que dans le milieu employé, on n'a pas ajouté de CaCl_2 , car dans l'eau de mer il y a une grande quantité de cation Ca^{2+} ainsi que du Mg^{2+} , capables tous deux de produire des cristaux de savons insolubles. Les souches essayées, fournies aimablement par M. le Prof. SHEWAN de la Torry Research Station d'Aberdeen, ont été les suivantes : NCMB 1082 *Pseudomonas* sp., NCMB 1550 *Pseudomonas bathycetes*, NCMB 857 *Vibrio natrie-gens*, NCMB 1274 *Vibrio fischeri*, NCMB 1501 *Achromobacter cholinophagum*, NCMB 1095 *Micrococcus* sp., NCMB 397 *Cytophaga marinoflava*, NCMB 1327 *Cytophaga* sp., NCMB 1086 *Corynebacterium* sp., NCMB 1877 *Arthrobacter marinus*.

Résultats

En ce qui concerne la lipolyse, démontrée par les halos formés autour des colonies, on observe (voir tableau) que cette activité est présente, chez toutes les espèces essayées. Puisque des colonies de grandeur différente, suivant le développement plus ou moins facile du germe dans le milieu prévu pour la lipolyse, auraient pu faire sentir leur poids sur l'importance de la lipolyse, on a lu aussi les diamètres des colonies, diamètres qui ont été soustraits des diamètres des halos. Si nous considérons la dimension des halos de lipolyse par rapport à la dimension de la colonie, nous pouvons constater presque toujours qu'à un développement modeste correspond une activité lipolytique modeste. Il s'ensuit aisément que la quantité d'enzymes lipolytiques doit être considérée comme étroitement liée avec l'entité de développement du germe.

Dans le processus de la manifestation de l'activité lipolytique, un rôle non indifférent est rempli, sans aucun doute, par la variété de cations et d'anions qui entrent en composition dans l'eau de mer. Ca^{2+} et Mg^{2+} agissent comme activants du pouvoir lipolytique, soit parce qu'ils soustraient les acides gras libérés par l'hydrolyse, soit parce que, suivant SCHONHEYDER & VOLQVARTZ [1945] et BORGSTRÖM [1954], ils stimuleraient directement l'hydrolyse s'interposant dans la zone interphasique et ils contribueraient à maintenir la stabilité de la lipase; soit, enfin, parce qu'ils s'opposeraient à la resynthèse.

On ne sait pas quelle influence pourraient avoir les autres sels dissous et leurs ions dans l'eau de mer. Nous avons jugé intéressant de faire, à ce propos, une expérience sur l'influence du chlorure de sodium, expérience que nous avons conduite en la comparant avec celle de l'eau de mer. Il est connu que le chlorure de sodium entre dans la composition de l'eau de mer dans une quantité d'à peu près 27 g. par litre. Pour ce qui concerne le comportement du pouvoir lipolytique en présence d'une concentration de NaCl élevée, on sait que l'ion Na^+ agit comme activant à peu près de la même manière que le Ca^{2+} et le Mg^{2+} , comme le K^+ , le Li^+ , à moins qu'il ne soit en concentrations élevées [CLÉMENT & CLÉMENT-CHAMPOUGNY, 1958]. Quelques lipases bactériennes, comme celle de *Staphylococcus aureus*, sont également actives, même à des concentrations de 5 % [TEDESCO, 1961]. On entend rappeler ici que d'autres ions, comme Cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , peuvent être activants par doses moindres, tandis qu'ils deviennent toxiques aux doses auxquelles d'autres ions exercent une action nettement activante [GEORGE & SCARIA, 1959].

Au cours de ces recherches complémentaires, nous avons préparé quatre versions de milieux en remplaçant l'eau de mer avec de l'eau distillée dans laquelle le NaCl était dissous en concentrations 0,1 0,5, 1 et 2,5 % avec 0,01 % de CaCl_2 . On a répété dans ces milieux les expériences de lipolyse comme auparavant dans le milieu à l'eau de mer.

Le NaCl à basse concentration de 0,5 n'a exercé aucun obstacle; la concentration à 1 % a révélé un accroissement évident; à la concentration de 2,5 %, on a remarqué un certain degré d'inhibition.

Ce comportement serait une confirmation ultérieure de la spécificité optimale de l'eau de mer sur les organismes qui vivent en elle, une spécificité qui est due à sa constitution complexe et à la constance des rapports ioniques, plutôt qu'à l'action d'un seul composant, même s'il est présent en quantité prépondérante.

Tableau

Ceppi	1082		1550		857		1274		1501		1095		397	
Substrati	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A
Tweens 20	6,1	30,2	1,5	0,7	11	14	12	21,3	1	0	4,1	00	1,2	0
Tweens 40	18,2	23,7	2	1,5	17	10,3	10	13,7	0,9	0	5,2	0	3	0
Tweens 60	6,3	20,1	1	0,8	9	0	8	15,6	1,1	0	6,1	0	5	0
Tweens 80	13,5	21	1,9	0,9	15	12,7	7	15,2	0,8	0	3,8	0	8	3,2
Tweens 85	17,2	31,5	0,5	0,8	12	0	4,9	0	0,7	0	4,2	0	8	3,8
Tributirrina	16,8	20	2,2	5,3	10,3	5,3	8	8,3	0,8	0	7,5	5,2	7,7	6,2
Trioleina	5	0	0,5	2,1	8,4	0	9	6,2	0,5	0	4,9	0	3,4	0

Références bibliographiques

- BORGSTRÖM (B.), 1954. — On the mechanism of pancreatic lipolysis of triglycerides. **13**, p. 491 — *Biochim., Biophys. Acta*.
- BRUNI (V.) & RUSSO (D.I.), 1968. — Ricerche sul potere lipolitico dei batteri di stagni salmastri. I Messa a punto di una metodica per l'apprezzamento di questo potere. **14**, p. 595 - *Atti Soc. Peloritana*.
- CLÉMENT (G.) & CLÉMENT-CHAMPOUGNY (J.), 1958. — Influence de différents sels sur la lipolyse pancréatique. **50**, p. 224 — *J. Physiol.*, Paris.
- GEORGE (J.C.) & SCARIA (K.S.), 1959. — *Current Sci. (India)*, **28**, p. 120. (citato da Bruni e coll. Atti XIV^e Convegno della Soc. Italiana di Microbiologia, 14-16 ottobre 1967).
- SCHONHEYDER (F.) & VOLQVARTZ (H.), 1945. — Affinity of pig pancreas lipase for tricaproin in heterogeneous solution. **9**, p. 57 — *Acta physiol. scand.*
- TEDESCO (E.), 1961. — Influenza del cloruro di sodio sull'attività lipolitica dello Stafilococco. **37**, p. 245, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim.*
- TYSSET (C.), BRISOU (J.) & CUDENNEC (A.), 1969. — De l'activité lipolytique chez quelques bactéries à Gram négatif isolées du milieu marin. **19**, 5, p. 893. — *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*

Microbiologie

