

LES ALGUES MARINES, SOURCE D'OSMOPROTECTEURS POUR *ESCHERICHIA COLI*

GHOUL Mostefa

Laboratoire d'écologie microbienne, Institut de biologie,
Université de Sétif, 19000 Algérie

L'étude de la croissance de *E. coli* en milieu salé et de l'accumulation intracellulaire d'osmoprotecteurs en présence d'algues marines macroscopiques a été menée. Seize souches de *E. coli* ont été isolées pour ce travail, toutes isolées du milieu marin. Les algues macrobenthiques appartiennent aux Phéophycées : *Ascophyllum nodosum* et *Fucus serratus*, aux Chlorophycées : *Ulva lactuca* et *Enteromorpha ramulosa*, et aux Rhodophycées : *Palmaria palmata*.

L'étude de l'halotolérance bactérienne d'une population de *E. coli* est réalisée sur deux types d'extraits : aqueux et hydro-alcooliques. D'une part, chaque algue (2,5g, poids humide) est finement coupée et immergée dans 50 ml de M63, milieu minéral minimum, additionné de glucose (10 mM). L'osmolarité du milieu est augmentée par addition de NaCl aux concentrations finales suivantes : 0 - 0,5- 0,68- 0,85- 1,02- 1,20 M. Les milieux sont autoclavés à 110 °C pendant 30 mn. Après décantation, les surnageants constitueront les extraits aqueux. D'autre part, 50 g d'algue (poids humide) sont homogénéisés au mixer dans de l'éthanol 70% (v/v). Après décantation, les extraits hydro-alcooliques sont filtrés, évaporés à sec puis récupérés dans 10 ml d'eau distillée. Les extraits sont ajoutés aux solutions de M63 à la dilution finale 10⁻². Des témoins, sans apport d'algues et en présence de glycine bêtaïne (puissant osmoprotecteur), sont réalisés. En outre, la croissance bactérienne d'une souche de *E. coli* (ZB400) est étudiée en présence de thalles d'algues entières découpés en fins morceaux (2,5 g, poids humide) immergés dans du M63 / NaCl 0,85 M et en présence d'extraits hydro-alcooliques d'algues (dilution finale 10⁻² dans du M63/ NaCl 0,85 M). Des témoins sans apport algal (M63 / NaCl 0,85 M) sont réalisés.

La mise en évidence de composés -oniums (ammoniums quaternaires et sulfoniums tertiaires auxquels appartiennent les molécules osmoprotectrices) dans des extraits hydro-alcooliques est réalisée par électrophorèse sous haute tension (40 V/cm). De telles substances sont-elles accumulées par *E. coli* soumise à une forte osmolarité du milieu (M63 / NaCl 0,85 M) ? La substance, principalement accumulée par *E. coli* à partir d'une algue donnée et déterminée par électrophorèse, est ensuite purifiée par chromatographie sur papier. L'identification de cette substance, étape finale, est réalisée par chromatographie sur couche mince (CCM) puis par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN¹H). Parallèlement, le dosage des composés -oniums, azote aminé et protéines, est effectué dans des extraits hydro-alcooliques.

La croissance des souches de *E. coli* soumises à un stress salin est largement améliorée en présence des deux types d'extraits d'algues, hydro-alcooliques et aqueux, dont les capacités osmoprotectrices sont très importantes et, dans certains cas, peuvent dépasser celles de la glycine bêtaïne. Les extraits favorisent la croissance bactérienne respectivement jusqu'à des teneurs en sel de 1,02 et 1,20 M. Dans les deux cas, *U. lactuca* et *P. palmata* sont les plus performantes : la croissance de plus de 30% des souches est encore constatée.

Le suivi de la croissance de *E. coli* ZB400 révèle que l'addition de thalles d'algues ou d'extraits hydro-alcooliques dans du M63 / NaCl 0,85 M accélère la multiplication bactérienne. En présence de thalles d'algues, les numérations bactériennes, en 48 heures, sont élevées : 5.108 UFC/ml (*U. lactuca* et *P. palmata*), 108 UFC/ml (*E. ramulosa*). La croissance est lente avec *F. serratus* ou inhibée avec *A. nodosum*. En présence d'extraits hydro-alcooliques, la croissance est considérable : elle atteint des valeurs optimales avec *U. lactuca* et *P. palmata* (1011 UFC/ml) (phénomène de diauxie), et des valeurs moyennes avec *E. ramulosa* et *F. serratus* (109 UFC/ml). Concernant *A. nodosum*, l'inhibition n'est plus véhiculée par l'extrait (5.108 UFC/ml).

L'électrophorèse sous haute tension révèle l'extrême richesse des extraits en composés Dragendorff-positifs. Elle montre d'autre part que *E. coli* accumule ces mêmes composés à partir de thalles d'algues ou d'extraits. Deux à quatre composés Dragendorff-positifs sont accumulés à chaque fois à partir d'une algue donnée. Celui qui s'est révélé principalement accumulé, a été purifié puis identifié par CCM et RMN¹H : *E. coli* accumule de la glycine bêtaïne à partir de *P. palmata* et *E. ramulosa*, du diméthylsulfonopropionate (DMSP) à partir de *U. lactuca*, et de la γ -butyrobétaine à partir de *A. nodosum* et *F. serratus*. Les résultats des dosages ont montré que *A. nodosum* et *F. serratus* sont plutôt riches en azote aminé et protéines, *P. palmata* en composés -oniums, *U. lactuca* en composés -oniums et azote aminé. *E. ramulosa* est pauvre en ces différents composés.

Les macroalgues marines favorisent donc la croissance de *E. coli* soumis à de fortes osmolarités du milieu. Ceci peut être attribué aux substances osmoprotectrices et probablement à leurs effets synergiques ainsi qu'à la présence d'autres substances organiques utilisables par *E. coli* comme éléments nutritifs.

Les macroalgues marines constituent, *in vitro*, une source d'osmoprotecteurs pour *E. coli*, bactérie de contamination du milieu marin. Elles favoriseraient (débris, excréation...) ainsi la survie de *E. coli* et d'autres entérobactéries dans certains compartiments benthiques de ce milieu.

RÉFÉRENCES

- BLUNDEN G., SMITH B.E., IRONS M.W., MING-HE YANG, ROCH O.G., et PATEL A.V., 1992. Betaines and their sulphonium compounds from 62 species of marine algal. *Biochemical Systematics and Ecology*. 20 : 373-388.
- FLATAU G.N., CLEMENT R.L., GAUTHIER M.J., et PUEL D.C., 1992. Effect of incubation of *Escherichia coli* cells with halophyte extracts on their subsequent survival in seawater. *Canadian Journal of Microbiology*. 38 : 838-842.

