

61

PRESENCE DE *MICROVIBRIO MARINUS* DANS LES EAUX DE L'OCEAN AUSTRAL ET SON POUVOIR BACTERICIDE

A. GUÉLIN* et P. CAMUS**

* Station de biologie Marine 29211 ROSCOFF (FRANCE)

** IREMER centre de Nantes - BP 1049 - 44037 NANTES Cedex 01 (FRANCE)

RÉSUMÉ - L'eau de la région subantarctique (48°33'S - 70°50'E) est fortement bactéricide. Diluée à 1:10 000 elle tue les bacilles de *Escherichia coli* en quelques jours. Les cultures obtenues à partir de cette eau contiennent de nombreux microvibrions en état apparemment pur. Le filtrat d'une telle culture, exempt de microvibrions, continue à tuer *E. coli*. Son pouvoir bactéricide s'accroît après chaque addition de bacilles-hôtes, sans que le prédateur soit présent dans le filtrat.

Mots clés : subantarctique, *Microvibrio marinus*, pouvoir bactéricide, autoépuration.

ABSTRACT - Presence of *Microvibrio marinus* in the Southern Ocean and its bactericidal effect. Sea-water from the subantarctic region appears to be strongly bactericidal. When diluted : 1:10 000 it kills *E. coli* within a few days. Cultures prepared with this water contain numerous microvibrions apparently as a pure strain. Microvibrio-free filtrates of the culture are still able to kill *E. coli*. Moreover the bactericidal power increases after each addition of host-bacteria in spite of the lack of the predators.

Key words : subantarctic, *Microvibrio marinus*, bactericidal power, self-purification.

INTRODUCTION

Il y a une centaine d'années, Giaxa (1889) le premier, attira l'attention sur le pouvoir bactéricide de l'eau de mer incitant, par la suite, de nombreuses recherches sur la question. L'existence d'un tel pouvoir est universellement admise actuellement et considérée comme la résultante de facteurs à la fois physiques, chimiques et biologiques. Le rôle indéniable des facteurs biologiques revient, en premier lieu, à la lutte entre les espèces bactériennes au sein du milieu aquatique.

L'introduction de bacilles coli dans les eaux prélevées aux différents points de l'Océan mondial provoque en quelques jours la mort de ces bacilles. Et ceci en absence de toute intervention de rayonnement, de dilution ou de brassage. Le début de disparition de *E. coli* coïncide avec l'apparition des vibrions prédateurs appartenant à l'espèce *Microvibrio marinus* (Guélin *et al.* 1982).

Le *Microvibrio marinus* se rencontre dans toutes les régions du globe. L'étude d'une souche isolée à partir des eaux subantarctiques est exposée dans cette note.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'échantillon d'eau a été prélevé en surface dans l'océan Austral, le 27 juin 1983. Température d'eau : 3° 2 C. Position de prélèvement : 48°33'S - 70°50'E.

Milieu de culture : une suspension de *E. coli* de 8 heures, vivant, à $2 \cdot 10^8$ bacilles par ml, est préparée en eau de mer autoclavée à 110°C . Le milieu gélosé GMB (gélose-eau de mer-bactéries) est préparé avec l'eau de mer additionnée de gélose à 1,5 % ainsi que de bacilles coli de 24 heures à la concentration de $1 \cdot 10^{10}$ bacilles par ml. L'ensemble est stérilisé pendant 30 mn à 115°C .

La souche de *Escherichia coli* utilisée a été fournie par le prof. Leclerc (Lille, France).

Le pouvoir bactéricide de l'eau est testé par la méthode d'Appelman (Appelman, 1921). Le titrage des microvibrions est effectué par la méthode de dilutions sur plaque de gélose GMB.

La température d'incubation est de 35°C .

Les observations ont été faites à l'aide du contraste de phase (grossissement 1000).

La filtration sur filtres millipore de 0,65-0,45-0,30-0,22 μm de porosité.

Les centrifugations ont été de 30 mn à 36 700 g (14 000 T_j mn).

RESULTATS

L'eau prélevée dans l'océan Austral manifeste un pouvoir bactéricide intense. Les bacilles de *E. coli* introduits dans cette eau sont tués en deux jours. Apparaissent ensuite dans la culture de minuscules vibrions dont la quantité initiale est de l'ordre d'une centaine de milliers par ml.

L'isolement d'une souche de microvibrions est facilité par leur présence dans la culture à l'état apparemment pur. Deux sortes de colonies sont obtenues sur la gélose GMB. Les unes apparaissent le deuxième jour, lisses et bombées de 0,25 à 0,3 mm de diamètre. D'autres, au bout de quelques jours, très nombreuses, ponctiformes, peu distincts sur le fond de gélose. Chacune de ces colonies est constituée par les éléments vibrioides, fins, allongés et filtrables (0,45 μm). Ils se multiplient aux dépens des bacilles et jamais sur les milieux de laboratoire. Les bacilles-hôtes sont tués sans qu'il y ait de contact direct avec le prédateur, contrairement à ce qui se passe dans le cas de prédateur d'eau douce *Bdellovibrio bacteriovorus* (Stoip, 1973).

Toutes les colonies examinées sont bactéricides, mais c'est à partir de colonies petites et tardives que les souches les plus agressives ont été obtenues.

Bien que provenant d'une région où la température est en permanence relativement basse, les nouveaux microvibrions peuvent également se développer aux dépens de *E. coli* à la température de 40°C . Il en est d'ailleurs de même de toutes les souches de *Microvibrio marinus* isolées dans d'autres zones géographiques.

La filtration des cultures de microvibrions à travers les filtres Millipore (0,22 μm) élimine, en général, tous les microvibrions d'un filtrat. Ce dernier continue pourtant à tuer les bacilles mis à son contact et son pouvoir bactéricide s'accroît curieusement après chaque addition de *E. coli* malgré l'absence de vibrions prédateurs.

DISCUSSION

Les microvibrions isolés dans les eaux subantarctiques ressemblent, en ce qui concerne leur morphologie et leur comportement, à *Microvibrio marinus*. Les conditions d'origine de ces vibrions contribuent à dégager certains aspects de leur existence et compléter ainsi les observations antérieures faites avec d'autres microvibrions. L'absence d'une pollution marquée dans l'eau étudiée s'explique, au moins en partie, par la température basse

environnante. L'agressivité du prédateur s'exerce plus librement dans ces conditions et amène la sélection des lignées bactéricides. L'apparition de vibrions nombreux et en état pur, dès les premiers repiquages, en est peut être la conséquence. Nos recherches précédentes dans d'autres régions océaniques ont été par contre entravées par la prédominance d'une flore étrangère et filtrable, comprenant des microvibrions dépourvus de toute bactéricidité.

Certaines de nos observations nécessitent la poursuite de recherches. Ainsi, par exemple, le fait que cette eau diluée au 1/1000 tue *E. coli* avec apparition de microvibrions, alors que, avant même sa dilution, elle n'en contient que de rares unités. La question se pose alors de l'existence d'une autre forme de survie chez les microvibrions.

Puisque les *E. coli* introduits dans un filtrat d'une culture de microvibrions sont tués en absence totale de ces derniers, on peut supposer l'émission par le prédateur dans le milieu extérieur de substances nocives vis-à-vis de *E. coli*. On s'explique encore mal la croissance du pouvoir bactéricide de ce filtrat en absence totale de vibrions et après chaque nouvelle addition de bacille coli. Deux hypothèses peuvent être proposées : l'existence d'une forme inconnue de survie chez les vibrions, ou la manifestation d'un processus auto-destructif de bacilles eux-mêmes, processus induit et amorcé par la présence des microvibrions.

Les eaux de surface, prélevées dans les différentes régions de l'Océan mondial sont toujours bactéricides ; du cercle polaire arctique à l'océan Austral en passant par l'équateur. Elles tuent *E. coli* avec l'apparition de minuscules vibrions prédateurs, *Microvibrio marinus*.

L'élimination des vibrions d'une eau entraîne la disparition du pouvoir bactéricide de cette eau. Le *Microvibrio marinus* apparaît comme un des facteurs principaux de l'autoépuration des eaux marines. Le développement de ce dernier suit exactement les courbes de variation saisonnière de la chlorophylle *a* et de la température, ce qui permet de supposer une relation directe avec le phytoplancton.

Les travaux de Michoustina (1984) concernant les ultra-formes de microbes et la substance organique dissoute dans l'Océan ouvrent de larges perspectives pour l'étude de microflore encore peu connue des eaux océaniques.

APPELMAN R., 1921. Le dosage des bactériophages. *C. R. Soc. Biol.*, 85 : 1098-1099.

GUELIN A., SCHWARTZBROD L., MICHOUSSINA I. et FINANCE C., 1982. Microvibrions marins prédateurs bactériens. Etude comparée des souches nouvelles. *2e Colloque de Microbiologie marine*. Université de Provence, Marseille, 24- 25 juin 1981, : 5-10.

MICHOUSSINA I.E., et BATOURINA M.B., 1984. Ultramicroorganismes et la matière organique de l'Océan. Moscou, I.d. Naouka, 96 pages.

STOLP H., 1973. The *Bdellovibrio* : bacterial parasite of bacteria. *Annual review of Phytopathology*, 11 : 53-76.