

## Nutrition bactérienne des Eponges :

1. Rétention et digestion d'*Escherichia coli* par l'Eponge *Ephydatia fluviatilis*

J. HUYSECOM\*, E. RICHELLE\*, Z. MOUREAU\*\* et G. VAN DE VYVER\*

\* Laboratoire de Biologie Animale et Cellulaire, Université Libre de Bruxelles, (Belgique)  
\*\* Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Bruxelles (Belgique)

-----  
 This work describes a sensible and accurate method for measuring the retention and digestion rate of bacteria by sponges. Results are presented for the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis* fed with *Escherichia coli* suspensions.  
 -----

Les spongiaires se caractérisent par une capacité élevée de filtration et de rétention de divers types de particules dont les bactéries (REISWIG 1975, FROST 1978). *In vitro*, des taux de croissance importants ont été observés lorsque les éponges sont nourries uniquement de suspensions bactériennes (RASMONT 1961, FRANCIS and POIRRIER 1986, HUYSECOM *et al.*, 1988).

Ce travail présente une méthode permettant d'évaluer la capacité de rétention et de digestion des bactéries par les éponges, en particulier par l'éponge d'eau douce *Ephydatia fluviatilis* qui se cultive aisément en laboratoire (RASMONT 1961). La méthode proposée est une amélioration de celle de WILLENZ *et al.* (1986) consistant à marquer les bactéries à la thymidine tritiée et à enregistrer leur ingestion dans les éponges par une mesure de la radioactivité au cours du temps.

En plaçant des éponges pendant 1h dans une suspension de bactéries marquées et en mesurant ensuite le traceur accumulé dans chaque éponge, on détermine la vitesse de rétention (nombre de bactéries retenues par heure et par éponge). L'expérience peut être réalisée soit sur des éponges à jeun soit sur des éponges cultivées au préalable pendant une période déterminée en présence d'une suspension de bactéries non marquées.

La thymidine tritiée n'étant pas ou peu incorporée par les éponges, on y observe rapidement une décroissance du marquage et une augmentation correspondante de la radioactivité dans le milieu extérieur. Selon WILLENZ *et al.* (1986), cette situation serait liée à une exocytose des produits de la digestion. La vitesse de digestion des bactéries par les éponges peut donc être évaluée en transférant ces dernières en milieu stérile, après incubation dans une suspension bactérienne marquée, et en mesurant l'évolution du marquage de l'éponge au cours du temps.

Cette méthode nous a permis d'étudier dans un premier temps la cinétique de rétention par *E. fluviatilis* d'*Escherichia coli* à différentes concentrations. L'influence de l'état nutritionnel des éponges ainsi que l'existence d'une valeur optimale du taux de rétention ont été mises en évidence (HUYSECOM *et al.*, 1988).

La digestion d'*E. coli* par *E. fluviatilis* a été étudiée dans un second temps en plaçant des éponges pendant 1h dans une suspension de bactéries marquées ( $10^7$  bact/ml) et en les transférant ensuite en milieu stérile.

La mesure de la radioactivité apparaissant dans le milieu extérieur montre qu'*E. coli* est totalement digéré par l'éponge. En effet, le passage du milieu sur filtre millipore (0.45µm) n'en réduit pas la radioactivité de manière significative ce qui indique que celle-ci n'est plus liée aux bactéries. Par ailleurs, l'absence d'augmentation du nombre de bactéries vivantes dans le milieu extérieur a été vérifiée par dénombrement des germes au cours du temps.

La décroissance de la radioactivité dans les éponges transférées en milieu stérile est linéaire. La pente de la droite permet d'évaluer la vitesse de digestion d'*E. coli* à 8.8% des bactéries ingérées par heure. La même expérience a été appliquée à des éponges nourries au préalable pendant 12h avec une suspension d'*E. coli* non marqués. Dans ce cas, la décroissance de la radioactivité dans les éponges est retardée de 3 à 5h.

En conclusion, la sensibilité et la reproductibilité de cette méthode permettent de distinguer et de quantifier les phénomènes de rétention et de digestion des bactéries par les éponges.

## REFERENCES

- FROST, T. M. 1978. In situ measurements of clearance rates for the freshwater sponge *Spongilla lacustris*. *Limnol. Oceanogr.* 23 : 1034-1039.  
 REISWIG, H. M. 1975. Bacteria as food for temperate-water marine sponges. *Can. J. Zool.* 53 : 582-589.  
 RASMONT, R. 1961. Une technique de culture des éponges d'eau douce en milieu contrôlé. *Ann. Soc. R. Zool. Belg.* 91 : 147-156.  
 FRANCIS, J. C. and M. A. POIRRIER 1986: Particule uptake in two freshwater sponge species, *Ephydatia fluviatilis* and *Spongilla alba* (Porifera : Spongillidae). *Trans. Am. Microsc. Soc.* 105 (4) : 11-20.  
 HUYSECOM, J., E. RICHELLE-MAURER, G. VAN DE VYVER and B. VRAY 1988. Effect of bacterial concentration on retention and growth rate of the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis*. *Physiol. Zool.*, 61 (6) in press.  
 WILLENZ, Ph., B. VRAY, M. P. MAILLARD and G. VAN DE VYVER 1986. A quantitative study of the retention of radioactively labeled *E. coli* by the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis*. *Physiol. Zool.* 59 (5) : 495-504.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 31, 2 (1988).

## Nutrition bactérienne des Eponges :

2. Etude comparative de la digestion de trois espèces bactériennes par *Ephydatia fluviatilis*

E. RICHELLE\*, J. HUYSECOM\*, Z. MOUREAU\*\* et G. VAN DE VYVER\*

\* Laboratoire de Biologie Animale et Cellulaire, Université Libre de Bruxelles (Belgique)  
\*\* Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Bruxelles (Belgique)

-----  
 The present work analyzes, in standardized laboratory conditions, the digestion of three bacterial species by the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis*. The results suggest that digestion rate of sponges could be related to bacterial morphological characteristics and/or the nature or abundance of their glycocalyx.  
 -----

Dans la première partie de ce travail consacré à la nutrition bactérienne des éponges, nous avons montré à l'aide d'une méthode basée sur l'ingestion de bactéries marquées à la thymidine tritiée qu'*Escherichia coli* était très efficacement retenu et totalement digéré par *Ephydatia fluviatilis*. Divers travaux ayant montré que d'autres bactéries et des levures pouvaient être retenues par les éponges avec des efficacités très variables (FROST 1980, VAN DE VYVER *et al.*, 1988), nous nous sommes proposés dans le présent travail de comparer la rétention et la digestion de trois espèces bactériennes : *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Aeromonas hydrophila*.

Les souches utilisées ont été isolées à partir d'éponges récoltées dans les étangs de Linkebeek et de Virelles (Belgique). Ce sont des bâtonnets gram négatifs, mobiles et communs dans les eaux douces, appartenant au groupe des bactéries entériques.

Après une heure de contact avec des bactéries marquées ( $10^7$  bact/ml), on observe une accumulation importante de la radioactivité par *E. fluviatilis* correspondant à une rétention de 90% pour *E. coli*, 87% pour *E. agglomerans* et 77% pour *A. hydrophila*. Par dénombrement des bactéries dans le milieu d'incubation, on constate que leur réduction numérique est en relation avec leur taux de rétention.

L'analyse des résultats montre que les trois espèces bactériennes sont digérées par l'éponge mais que leur temps de transit est différent. *E. coli* est digéré plus rapidement que les deux autres bactéries testées. Bien que les résultats soient plus hétérogènes pour ces dernières, on peut cependant estimer leur vitesse de digestion (bactéries/heure) à 4,4% des bactéries ingérées pour *E. agglomerans* et à 3,3% pour *A. hydrophila* alors qu'elle est de 8.8% pour *E. coli*.

L'observation, au microscope électronique à balayage, des suspensions bactériennes utilisées permet de comprendre partiellement ces différences. Bien que les trois types de bactéries aient une morphologie semblable, la présence de chaînettes chez *A. hydrophila*, de fibrilles de glycocalyx reliant les cellules entre elles chez *E. agglomerans* pourrait expliquer l'allongement du temps de digestion de ces bactéries.

En conclusion, il nous paraît vraisemblable que la vitesse de digestion des bactéries par les éponges puisse être liée aux caractéristiques morphologiques, à l'abondance et/ou à la nature du glycocalyx bactérien. Il serait cependant intéressant de poursuivre ce travail avec des bactéries présentant des caractéristiques fort différentes (coques, bactéries encapsulées, ...).

## REFERENCES

- FROST T. M. 1980. Clearance rate determinations for the freshwater sponge *Spongilla lacustris* : effect of temperature, particule type and concentration, and sponge size. *Arch. Hydrobiol.* 90 (3) : 330-356.  
 VAN DE VYVER G., B. VRAY, S. BELAOUANE and D. TOUSSAINT 1988. Efficiency and selectivity of microorganism retention by the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis*. in "Proceedings of the Third International Conference on the Biology of Sponges". W. Hartman and K. Ruetzler

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 31, 2 (1988).