

Cinétique de la rétention et de la digestion de *Klebsiella pneumoniae* par l'éponge *Ephydatia fluviatilis*

E. RICHELLE-MAURER*, G. Van de VYVER* et Z. MOUREAU**

*Université Libre de Bruxelles (Belgique)

**Institut royal de Sciences naturelles de Belgique (Belgique)

Les éponges se nourrissent par filtration en retenant un large spectre de particules allant de 0,1µm à 50 µm, parmi lesquelles les bactéries. Depuis plusieurs années, les mécanismes de la nutrition bactérienne des éponges sont étudiés dans notre laboratoire en utilisant des germes marqués (Willenz et al 1986). Ces travaux mettent en évidence l'efficacité de la nutrition bactérienne et l'existence de différences dans les taux de rétention et de digestion selon les espèces bactériennes (Richelle et al 1988 c, 1990). Les caractéristiques morphologiques des bactéries interviennent probablement à divers niveaux pour rendre compte de ces résultats.

Nous avons, dans le présent travail, étudié la rétention et la digestion d'une bactérie capsulée, *Klebsiella pneumoniae* par l'éponge d'eau douce *Ephydatia fluviatilis*. Ceci permet d'évaluer l'impact de la présence d'une capsule sur la nutrition.

Méthodes: elles ont été décrites précédemment (Huysecom et al 1988a,b); des éponges âgées de 10 jours, à jeun ou nourries pendant différents temps à l'aide de suspensions bactériennes non marquées sont incubées pendant une heure dans une suspension de bactéries marquées à la thymidine tritiée (2ml 10⁷ b/ml). La cinétique de la rétention est établie en mesurant la radioactivité au niveau des éponges et du milieu extérieur au cours du temps.

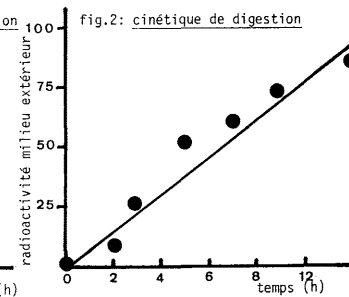
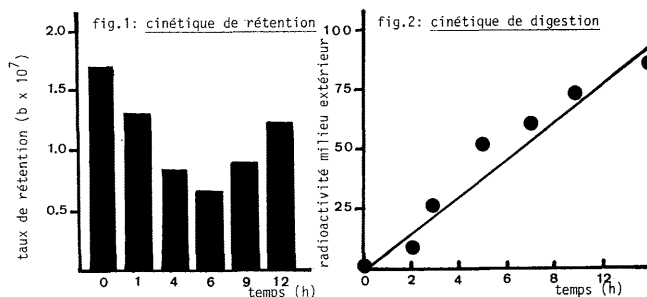
Pour étudier la cinétique de la digestion, les éponges sont placées dans un milieu minéral frais non radioactif après l'incubation d'une heure en présence de bactéries marquées. La radioactivité est ensuite suivie au niveau des éponges et du milieu extérieur. La filtration de ce dernier sur filtre millipore 0,45µm permet de déterminer s'il y a égestion de produits de la digestion ou non.

Résultats et discussion

Rétention: (figure 1) la cinétique de rétention de *K.pneumoniae* montre un effet de l'état nutritionnel de l'éponge sur le taux de rétention c'est-à-dire sur le nombre de bactéries retenues par heure.

K. pneumoniae est retenue plus efficacement par les éponges à jeun (86%). Après nourrissage, le taux de rétention décroît jusqu'à atteindre 38% de sa valeur initiale, pour augmenter ensuite après 9 heures de nourrissage.

Digestion: (figure 2) on observe une augmentation linéaire de la radioactivité dans le milieu extérieur et une diminution correspondante de celle-ci dans les éponges. Ceci provient de l'égestion de résidus de la digestion et non de bactéries qui seraient rejetées par l'éponge sans être digérées. Le nombre de bactéries digérées par heure, calculé d'après la droite de régression, est estimé à 7,7 % du nombre de bactéries ingérées, soit 1,3 10⁶ b/h/ éponge issue de 50 gemules.



Ces résultats mettent en évidence que *K.pneumoniae*, malgré sa capsule est retenue et digérée par *E. fluviatilis* mais à un taux moindre que *E.coli* (Huysecom et al 1988 a). Par ailleurs, ils confirment la relation existant entre rétention et digestion.

En conclusion, de l'ensemble des travaux effectués sur la rétention et la digestion des bactéries par les éponges d'eau douce, il apparaît que les taux différentiels de rétention et de digestion sont liés tant à l'espèce d'éponge qu'à l'espèce bactérienne. Ils peuvent être explicités de la manière suivante:

A jeun, la digestion n'intervenant pas, le taux de rétention dépend de la capacité de phagocytose spécifique de l'éponge et de l'espèce bactérienne, les caractéristiques morphologiques de celles-ci (taille, capsule, amas ou chaînettes) étant probablement un facteur déterminant. L'intervention de récepteurs spécifiques a été suggérée mais n'a pas encore été mise en évidence. Des expériences de nutrition simultanée avec deux bactéries devraient permettre d'y répondre.

Après nourrissage, le taux de rétention des bactéries est modulé par l'efficacité de leur digestion par l'éponge. Rétention et digestion sont donc étroitement liés comme nous avons pu le montrer lors de l'étude de la digestion d'*E.coli* par trois espèces d'éponges (Richelle et al 1990). A une efficacité de rétention élevée correspond une bonne assimilation des bactéries.

Références

- Huysecom J., E. Richelle-Maurer, Z. Moureau et G. Van de Vyver. 1988 a. Rétention et digestion d'*E.coli* par l'éponge *E. fluviatilis*. Rapp. Comm. int. Mer Médit., 31, 2, 184.
- Huysecom J., E. Richelle-Maurer, G. Van de Vyver et B. Vray. 1988 b. Effect of bacterial concentration on retention rate and growth of the freshwater sponge *E. fluviatilis*. Physiol. Zool. 61 (6), 535-542.
- Richelle-Maurer E., J. Huysecom, Z. Moureau et G. Van de Vyver. 1988 c. Etude comparative de la digestion de trois espèces bactériennes par *E. fluviatilis*. Rapp. Comm. int. Mer Médit., 31, 2, 184.
- Richelle-Maurer E., G. Van de Vyver et Z. Moureau. 1990. Efficiency of freshwater sponge nutrition on bacteria. In Microbiology of poecilotherms 231-234.
- Willenz P., B. Vray, M.P. Maillard et G. Van de Vyver. 1986. A quantitative study of the retention of radioactively labelled *E.coli* by the sponge *E. fluviatilis*. Physiol. Zool., 59 (5) 495-504.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 32, 1 (1990).

Fractionnement physique des eaux interstitielles de sédiments marins : analyse des glucides de la matière organique dissoute

E. CHOURY, M. RICHOU et J. BENAÏM

Laboratoire de Recherches de Chimie Marine des Organométalliques, Université de Toulon et du Var, 83957 La Garde (France)

Dans les eaux naturelles, les métaux Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, sont reconnus comme toxiques dans leur forme libre pour les systèmes biologiques tels que le phytoplancton, les algues, les poissons. Les métaux complexés par des ligands organiques ou inorganiques apparaissent beaucoup moins toxiques. La littérature s'accorde en général pour désigner les composés à masses moléculaires inférieures à 1000 daltons comme responsables de ce phénomène (KRAMER et DUINKER, 1980). Néanmoins ces résultats ont été obtenus avec des fractions humiques (géopolymères) extraites des eaux ou de sédiments et non à partir de la matière organique dissoute (MOD) dans son intégralité.

Dans les eaux interstitielles (EI) de sédiments marins prélevés en zone littorale, nous avons mis en évidence l'importance relative élevée des biopolymères par rapport aux géopolymères (30 à 80%) (BENAMOU et al. 1989). Les biomolécules dans ces proportions ne peuvent plus être négligées dans une étude de phénomènes de complexation métaux-matière organique. Ces molécules sont susceptibles d'interactions avec les métaux (BIZRI-KHAYAT, 1983; JOHN et HAAS, 1986) et donc responsables de leur transport et de leur biodisponibilité.

Dans une précédente étude, nous avons montré le rôle non négligeable des acides aminés dans les phénomènes de complexation de certaines fractions des EI (BOUSSEMARY, 1989). Nous poursuivons ce travail par l'étude, qualitative et quantitative des glucides. Dans le même but d'appréhender la totalité de la MOD, les échantillons d'EI ne sont soumis à aucune extraction ni traitement chimique avant le fractionnement physique par ultrafiltration (seuil de coupure à 1000 daltons) et chromatographie par perméation de gel (G-15). Le couplage de ces deux techniques offre l'originalité de montrer que 70 à 90% du carbone organique dissous de la MOD appartient à la fraction dite inférieure à 1000 daltons. En effet, l'ultrafiltration à circulation tangentielle sous pression (2 bars) avec une membrane en polysulfone éther, favorise la séparation des petites molécules de l'ensemble de la MOD avec un bon rendement. D'autre part, la chromatographie par perméation de gel, avec l'eau de mer comme éluant, se révèle être un outil efficace pour séparer la matière organique très complexe des EI.

La polydétection des fractions issues de la G-15 par absorption UV, spectrofluorimétrie, mesure de carbone organique dissout permet de mettre en évidence plusieurs familles de composés telles que les acides fulviques (géopolymères), les acides aminés (BOUSSEMARY et al. 1990). La méthode de "dérivation précolonne" avec la DNS hydrazine (MOPPER et al. 1983) est appliquée au mélange de glucides contenu dans les EI. La chromatographie liquide haute performance (HPLC) en phase Inversée nous permet de séparer les dansyl - hydrazones formées. La fluorescence (excitation: 370nm; émission: 540nm) est utilisée pour la détection. Les temps de rétention et aires des pics de 11 étalons glucides permettent d'identifier et d'évaluer les sucres présents dans chacune des fractions.

Cette étude a permis de préciser la nature et l'importance des glucides dans les différentes fractions obtenues à partir de la MOD des eaux interstitielles de sédiments marins pour différents sites, par rapport aux autres familles de géo et biomolécules.

BENAMOU, C., RICHOU, M., BENAÏM, J. 1989. Importance relative des bio- et des géopolymères dans les eaux interstitielles : utilisation de la spectrofluorimétrie et essais biochimiques. *Water research*, 23(9):1127-1136.

BOUSSEMARY, M. 1989. Méthodes de caractérisation physico-chimique de la matière organique dissoute dans les eaux interstitielles de sédiment marin côtier. *Thèse, Université de Toulon*.

BOUSSEMARY, M., RICHOU, M., FEVRIER, G., BENAÏM, J. 1990. On the detection of low-weight natural organic molecules from marine interstitial waters in gel chromatography. *Environmental Technology letters*. (in press).

BIZRI-KHAYAT, Y., 1983. Coordination du plomb II par des ligands multifonctionnels à atomes donneurs N, O, S. Thèse d'état, *Université de Claude Bernard, Lyon*.

JOHN, W., et HAAS, JR., 1986. Complexation of calcium and copper with carbohydrates. *Marine chemistry*, 19 : 299-304.

MOPPER, K., et JOHNSON, L. 1983. Reversed-phase liquid chromatographic analysis of low-weight natural organic molecules from marine interstitial waters. *Journal of chromatography*, 256 : 27-38.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 32, 1 (1990).