

EG10 - CAH - R

IFREMER
Centre de BREST
29273 BREST CEDEX

Laboratoire ARAGO
Université P. & M. CURIE
UA 117
66650 BANYULS sur mer

**Rôle du compartiment bactérien dans la
décomposition
du matériel d'origine détritique au sein des
écosystèmes côtiers
(baie de St Brieuc et baie de Morlaix)**

RAPPORT d'ACTIVITE

G.CAHET

IFREMER Bibliothèque de BREST



0EL07448

IFREMER N° 27 423

CT 89/2.13.0413

ANNEXE SCIENTIFIQUE du contrat PARIS VI - Guy CAHET

**Thème II - BIODEGRADABILITE DE LA MATIERE ORGANIQUE
EN ZONE COTIERE**

*Thème de rattachement : Cycle du carbone (Programme
National d'Océanographie Côtière).*

Contexte scientifique

Les systèmes côtiers sont caractérisés par un matériel détritique important provenant, soit de la matière organique produite sur place, soit des apports continentaux. Une fraction seulement de cette matière organique est transformée par le réseau trophique, le reste étant piégé dans le sédiment ou exporté vers le large. La quantification de cette partie transformable par le vivant, dite biodégradable, est une composante essentielle du bilan global en carbone des zones côtières.

Afin d'être intégrée dans des modèles d'écosystème, la biodégradabilité de la matière organique doit être traduite en terme de cinétique et de rendement (efficacité de l'assimilation des organismes hétérotrophes).

En raison du rôle de "lien" (et peut-être de "puit") que représente le compartiment bactérien dans les flux trophiques au sein des écosystèmes côtiers, une étude à caractère expérimentale sur la dégradation par les microorganismes est proposée.

Programme

- . Etude expérimentale de la biodégradation sur différents substrats naturels : plancton frais, détritiques sédimentés dans des pièges, sédiment.
- . Suivi de l'évolution de la matière organique par :
 - consommation d'O₂
 - croissance microbienne : comptage direct, incorporation de Thymidine et de Leucine
 - mesure de C particulaire et dissous.

} Cahet

DRO/EL/90.236/P. CHARDY/CC
24 septembre 1990
page 2

L'étude de la croissance microbienne est à la charge du contractant.
Les expérimentations se dérouleront au Centre IFREMER de Brest.
Le programme prévoit deux expériences d'une durée de 15 jours à 3 semaines chacune.

[Carbon flows within coastal ecosystem]

Central Pb.

Production of microbiota - Thymidine incorporation method.

↓
Bacteria → detritus transformer and food source.

①. What is the meaning of Production rate deduced from Thymidine incorporation - "Potential upper limit"
- a mean rate (annual budget)

② bacterial production expressed in $\text{mg C m}^{-2} \text{ day}^{-1}$
→ what depth of cm do you take.

Conversion Production in $\text{number of } \mu\text{m}^{-2} \text{ g}^{-1} \text{ dry weight sediment}$

to Production in $\text{mg C m}^{-2} \text{ day}^{-1}$

J. J. W. MORIARTY - CSIRO Marine Laboratory Cleveland
Lizard Island - Great Barrier Reef.

I.F.R.E.M.E.R
Centre de BREST
29273 BREST CEDEX

Laboratoire ARAGO
Université P.& M. CURIE
UA 117
66650 BANYULS sur mer

**Rôle du compartiment bactérien dans la
décomposition
du matériel d'origine détritique au sein des
écosystèmes côtiers
(baie de St Briec et baie de Morlaix)**

RAPPORT d'ACTIVITE

G.CAHET

Rôle du compartiment bactérien dans la décomposition du matériel d'origine détritique au sein des écosystèmes côtiers (baie de St Brieuc et de Morlaix)

Thème 1

L'une des étapes du programme EUPHORBE est l'élaboration d'un modèle simulant le fonctionnement du système benthique en Baie de St Brieuc. Vis à vis du fonctionnement du compartiment bactérien les questions du modèle sont :

- Signification des bactéries comme source trophique pour les consommateurs secondaires (filtreurs et détritivores).
- Rendement de la conversion "matière organique détritique-biomasse bactérienne".

Bien que de nombreuses spéculations aient été avancées sur le rôle du compartiment bactérien dans les écosystèmes côtiers, il existe trop peu de mesures de production bactérienne pour se contenter des données extraites de la littérature.

Thème 2

Recherche d'une mesure d'extraction bactérienne dans un estuaire pollué (MORLAIX) et, si possible, estimation de la part d'activité due aux bactéries d'origine entérique.

Thème 1

Plusieurs données sont maintenant disponibles sur le rôle des bactéries dans le recyclage de la production primaire pélagique. Des doutes subsistent quant à la fraction de matière mise en jeu et à la structure de la nourriture microbienne participant à la production. Des informations récentes indiquent nettement que les bactéries participent en même temps que leurs consommateurs immédiats à la transformation efficace de la matière organique dans les écosystèmes benthiques.

On a pu avancer que dans certains systèmes, sensiblement la moitié des arrivées organiques sont ainsi recyclées. Mais de telles quantifications sont rares et délicates, car le plus souvent des bactéries sont associées à des détritiques. Définir l'importance relative des bactéries et des détritiques dans les ressources alimentaires de la macrofaune benthique demeure l'un des axes majeurs de l'écologie benthique (revue dans LOPEZ et LEVINTON, 1987).

Afin de percevoir les changements dans la production bactérienne figurent les méthodes d'énumération des bactéries (directes par épifluorescence, indirectes pour les bactéries viables) et les méthodes radioisotopiques. En microbiologie, la certitude n'a pas de limite et l'emploi de chacune des méthodes est souvent l'objet de critiques.

Parmi ces critiques, dans l'estimation de l'abondance bactérienne et de la biomasse, citons :

- la difficulté de séparer les bactéries de la gangue sédimentaire, l'interférence des particules lors du comptage, la proportion des bactéries attachées aux particules, lors de la numération directe par épifluorescence couplée avec des colorations,

- ces observations sont applicables aux bactéries viables qui sont généralement inférieures aux bactéries totales. Toutefois, elles sont difficiles à détacher des sédiments et par conséquent, seulement un faible pourcentage poussera sur les milieux de culture conventionnels.

- les facteurs de conversion de l'abondance bactérienne en biomasse présentent deux difficultés principales, la mesure du diamètre cellulaire (discussion dans NEWELL et al. 1986; RUBLEE, 1982) et un facteur de conversion du volume cellulaire en carbone qui varierait selon les auteurs d'un facteur 2 à 5, selon les auteurs.

Parmi les difficultés d'utilisation de l'incorporation de thymidine dans l'ADN bactérien, mentionnons:

- le fait que toutes les cellules actives ne prennent pas la thymidine, sans doute parce que dans un état de "unbalanced growth", l'activité ne signifie pas nécessairement division cellulaire,

- les effets de l'agitation du sédiment pour disperser la thymidine ajoutée,

- l'adsorption éventuelle du marquage sur les particules sédimentaires, réclamant quelquefois des incubations de durées très courtes,
- la grande difficulté à extraire l'ADN marqué,
- le catabolisme possible à l'égard de la thymidine,
- un facteur de conversion approprié quand on veut opérer une estimation du carbone produit.

La tâche est donc ardue au niveau des sédiments. Cependant, selon MORIARTY(1986) les estimations indépendantes de production bactérienne à partir de l'incorporation de thymidine et de l'incorporation de $^{32}\text{P-PO}_4$ se sont avérées en bon accord, selon MORIARTY(1986).

Plus de travail est donc demandé pour établir l'efficacité de la méthode de la thymidine appliquée aux sédiments. C'est dans cet esprit que nous avons mis à profit les investigations menées en Baie de St Brieuc dans le cadre du projet Euphorbe (fig.1) pour tenter de quantifier le carbone bactérien dans l'eau et à l'interface eau-sédiment.

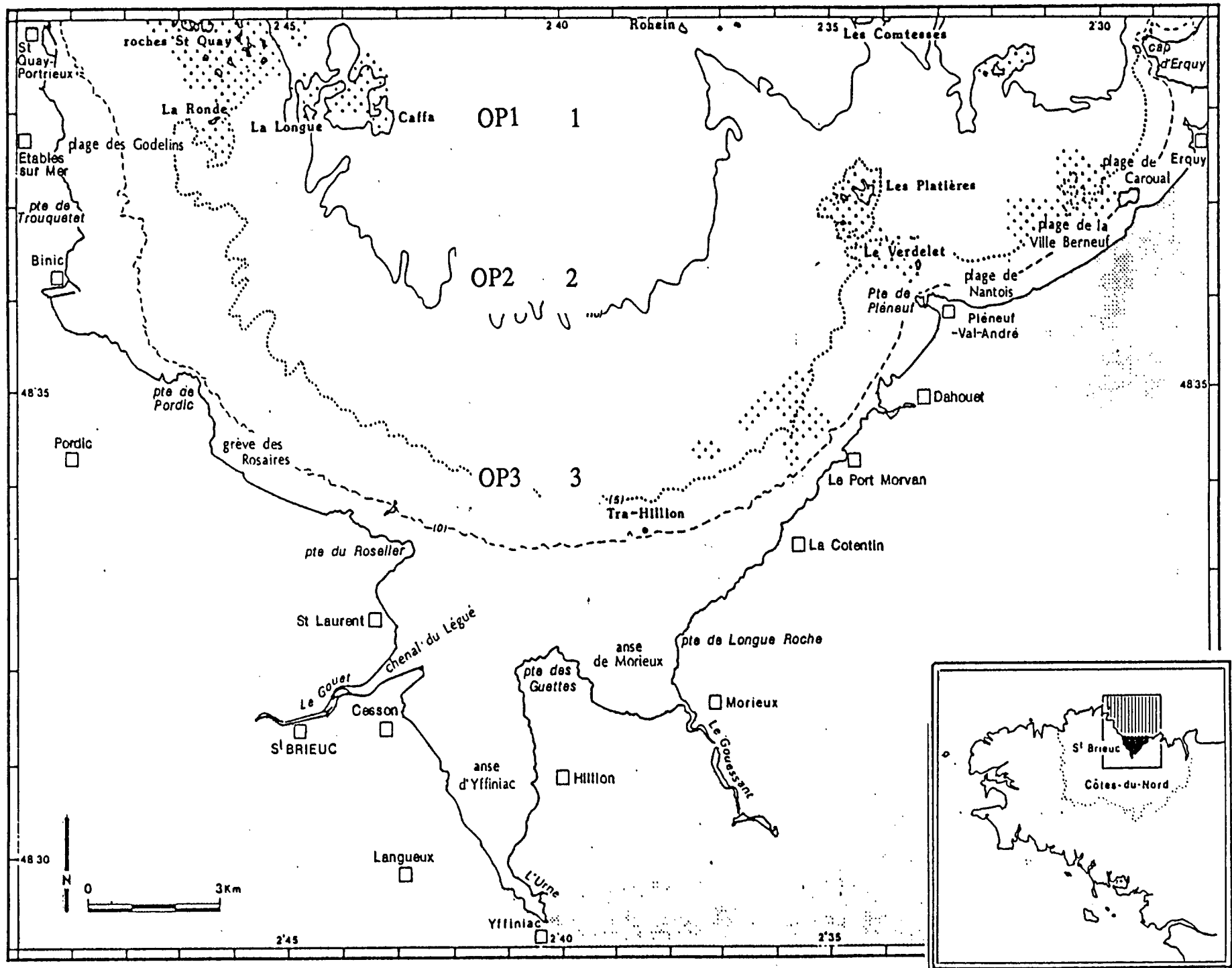


Figure 1 . Baie de St BRIEUC : stations d'étude pour les eaux et l'interface eau-sédiment.

METHODES

Materiel d'étude

Entreprendre une estimation in situ paraissait délicate. Pour cette raison, seuls des prélèvements obtenus à marée basse ou en plongée ont été soumis à analyse.

Dans les trois heures suivant les prises d'échantillons, des comptages directs, des numérations de bactéries viables sur milieux de culture et des incorporations de thymidine ont été pratiquées

Techniques d'étude

L'addition de ³Hmethyl thymidine aux eaux et aux sédiments permet par la recherche de l'ADN formé d'estimer la production bactérienne.

Généralement les cheminements d'extraction proposés dans la mise en évidence de l'ADN comprennent (FINDLAY et al.,1984; POLLARD, 1987; KEMP,1987; CRAVEN et KARL,1984; THORN et VENTULLO,1988) :

- extraction NaOH, le plus souvent 1N, à froid avec précipitation au TCA (10% dans la glace)

- extraction NaOH 1N à chaud avec précipitation au TCA ou passage dans un sac à dialyse (POLLARD,1987).

Ces extractions sont précédées soit par un lavage à l'eau (BELL et AHLGREN,1987) soit par une décarbonatation acide (CRAVEN et KARL,1984).

Or d'autres articles mentionnent la difficulté fréquente à extraire l'ADN bactérien des sédiments, adsorbées sur les particules ou dans les mailles de l'argile (LORENZ et al 1981; LORENZ et WACKERNAGEL,1987).

Dans le but d'éviter une trop grande concentration initiale de ³H-thymidine non utilisée après de courts temps d'incubation, nous avons procédé systématiquement à un lavage préalable à 6 reprises avec de l'eau réfrigérée.

Ensuite, compte tenu de ces considérations nous nous sommes proposés (fig.2) deux voies parallèles:

- la première, après fixation au formol 5% et lavage à l'eau à 4°C, nous conduisait à une extraction NaOH 1N à froid puis à chaud, ensuite à une extraction HCl 2N à froid puis une extraction TCA 5% final à chaud et une dernière extraction NaOH 1N à chaud;

- la seconde était identique,mais la première extraction sodique était remplacée par une décarbonatation à HCl 2N suivi d'une extraction TCA 5% final à chaud. Le protocole était le même ensuite.

Cette démarche avait pour but de vérifier si les deux voies conduisaient au même resultat et si l'étape complémentaire proposée (TCA

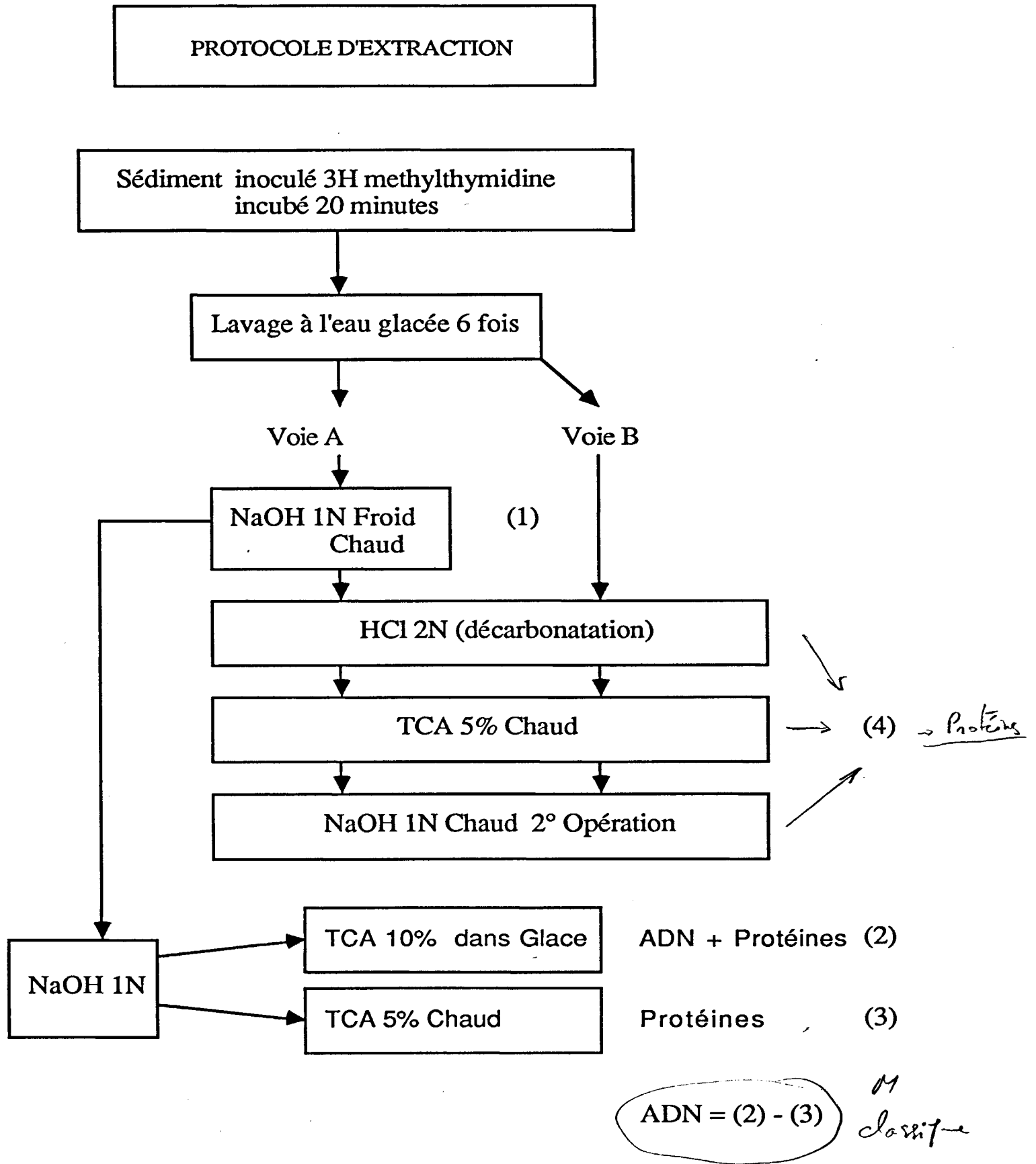


Figure 2 . Protocole expérimental d'extraction des macromolécules marquées à partir de la 3H methylthymidine.

^M
 $ADN = (2 + 4) - 3$ *Calhet*

5% à chaud) permettait de récupérer des macromolécules nucléiques non décrochées à la soude 1N à froid et à chaud.

RESULTATS

1/ Signalons tout d'abord que les échantillons témoins ne présentent que de faibles pourcentages de radioactivité dans les diverses fractions d'extraction(tabl.1) :

- 0,3% maximum des désintégrations par minute (d.p.m.) dans la fraction sodique n°1.
- 0,01% dans la fraction TCA 5% bouillant
- 0,01% dans la fraction sodique n° 2.

2/ Par rapport aux témoins, on relève entre 0,75 et 7,2% des radiocomptages dans l'extrait sodique par rapport aux d.p.m. totaux. En outre, en avril, un essai laisse apparaître la nécessité d'opérer à chaud pour retirer le maximum de d.p.m. solubles dans la soude 1N (tabl. 2).

3/ Une charge élevée en d.p.m. dans ce dernier extrait ne signifie pas nécessairement une quantité importante de composés marqués précipitables à TCA 10% 4°C, représentant la fraction ADN ou composés assimilés. En novembre, par exemple, la station 2 indique un pourcentage de 0,3% seulement de composés tritiés précipitables par rapport aux 7,2% extraits par NaOH 1N. En juin, la station 3 montre un pourcentage de 11,8 en ADN par rapport aux 2,35% extraits dans la soude 1N.

4/ La proportion d'ADN précipité dans l'extrait total sodique varie selon la saison entre 0,3 et 12%. Une fraction élevée quelquefois peut donc appartenir aux acides nucléiques indicateurs d'une production bactérienne.

5/ L'extraction in toto de l'ADN semble difficile puisqu'on retire entre 0,1% et 0,5% du total dans cet extrait alors que les témoins indiquent 0,01% des d.p.m. totaux. Après les traitements successifs NaOH 1N chaud-HCl 2N froid- TCA 5% chaud, il reste encore une proportion non négligeable solubilisée lors de la deuxième extraction sodique (NaOH 1N chaud), 0,5% maximum.

6/ Les valeurs "vraies " pour l'ADN bactérien doivent donc se situer entre les valeurs de

1) d.p.m.précipités à TCA 10% 4°C (colonne 2 du tabl.1) corrigés de la colonne 3 correspondant au reliquat "protéines" ayant supporté le traitement TCA 5% à chaud

		NaOH 1N chd Total % (1)	NaOH 1N chd PpTCA %(2)	NaOH 1N chd puis TCA chd PpTCA %(3)	TCA chaud Total % (4)	NaOH 1N chd 2°extraction Total % (5)	NaOH 2°extr. PpTCA %(6)	RAPPORT (2)/(1)-%	Total"ADN" (2)+(4)-(3)	Total"ADN" (2)-(3)
AVRIL	St.1	1,54	0,103	0,015	0,061	0,14	0,018	6,7	0,149	0,088
		1,91	0,118	0,029	0,097	0,27	0,024	6,2	0,186	0,089
	St.2	1,83	0,067	0,018	0,034	0,13	0,035	3,7	0,083	0,049
		2	0,069	0,016	0,037	0,14	0,014	3,4	0,09	0,053
	St.3	1,4	0,055	0,014	0,013	0,18	0,024	3,9	0,054	0,041
		1,41	0,045	0,011	0,01	0,11	0,015	3,2	0,044	0,034
JUIN	St.1	2,83	0,109	0,018	0,06	0,23	0,01	3,8	0,151	0,091
		2,76	0,096	0,017	0,087	0,28	0,014	3,5	0,166	0,079
	St.2	3,21	0,274	0,023	0,113	0,31	0,017	8,5	0,365	0,251
		3,51	0,313	0,023	0,103	0,26	0,011	8,9	0,393	0,29
	St.3	2,35	0,277	0,035	0,519	0,68	0,026	11,8	0,761	0,242
		3,01	0,353	0,048	0,537	0,52	0,022	11,7	0,842	0,305
SEPTEMBRE	St.2	1,52	0,082	0,015	0,1			5,4	0,167	0,067
		1,66	0,082	0,018	0,094			4,9	0,158	0,064
		1,51	0,069	0,011	0,129			4,6	0,185	0,058
	St.3	3,32	0,097	0,014	0,152			2,9	0,235	0,083
		2,86	0,081	0,021	0,091			2,8	0,151	0,06
		3,12	0,089	0,023	0,118			2,8	0,184	0,066
NOVEMBRE	St.2	7,2	0,023	0,004	0,181	0,04		0,3	0,2	0,019
		7,6	0,042	0,006	0,174	0,03		0,5	0,21	0,036
	St.3	0,91	0,038	0,008	0,093	0,06		4,2	0,123	0,03
		0,75	0,03	0,005	0,084	0,05		4	0,109	0,025
AVRIL Temoins	St.1	0,09	0,009		0,011	0,004		0,1	0,02	
		0,12	0,013		0,019	0,003		1	0,032	
	St.2	0,23	0,008		0,009	0,006		0,3	0,017	
		0,15	0,012		0,008	0,008		0,8	0,02	
	St.3	0,26	0,008		0,007	0,007		0,3	0,015	
		0,19	0,009		0,009	0,005		0,5	0,018	

Tableau 1 . Radiocomptages obtenus sur les sédiments de la Baie de St Brieuc avec la 3H Me-Thy. comme précurseur (tous les résultats exprimés en % des d.p.m. totaux ajoutées).

	NaOH 1 N fr. Total-%	NaOH 1 N ch. Total-%	NaOH 1 N fr. + ch. pp TCA %	NaOH 1N fr. + ch. Mb.dial. %
St.1	1,26	0,28	0,103	0,153
	1,54	0,37	0,118	0,231
St.2	1,39	0,44	0,067	0,126
	1,52	0,48	0,069	0,139
St.3	1,04	0,36	0,055	0,067
	1,12	0,29	0,045	0,051

Tableau 2 . Comparaisons des d.p.m.(%) extraits en solution sodique à froid et à chaud et des d.p.m.(%) précipités par TCA dans la glace ou retenus par membrane à dialyse (ADN ou substances assimilées).

mol	M	ngms
10^{-3}	10^{-6}	10^{-9}

MORINATI et al. ^{1989,} 1992 (Deep Sea Research 38, 6)

6×10^{17} cells par 1 mole de Thymidine

soit $6 \times 10^{(17-9)} = \underline{\underline{6 \times 10^8}}$

2) cette même valeur complétée par les d.p.m. récupérés lors de l'extraction 5% TCA bouillant après la décarbonatation HCl 2N froid, préalable (colonne 4 du tabl.1).

On note quelquefois dans cet extrait TCA bouillant (colonne 4) des valeurs de d.p.m. nettement plus fortes que l'ADN précipité dans l'extrait sodique (colonne 2). Ces différences sont peut-être indicatrices de la mise en solution par TCA bouillant d'autres composés que l'ADN bactérien.

Compte tenu de toutes ces considérations, les sédiments offrent des gradients très importants selon les saisons. On peut, en effet, passer d'une production très faible à l'automne ou à la fin de l'hiver, à une production très élevée à la fin du printemps.

Sur la base de n molécules de thymidine transformées en ADN bactérien, nous appliquerons les coefficients de conversion couramment employés, soient :

$2 \cdot 10^9$ cellules bactériennes produites pour 1 n mole de thymidine,

- $2,8 \cdot 10^{-14}$ g de carbone formé par cellule bactérienne.

OK

Calculs du nombre de cellules bactériennes formées

Pour chaque station et chaque période de l'année, que l'on se place dans le cas maximum de l'ADN formé (valeurs des colonnes (2) + (4) - (3) (tabl.1)) ou minima (valeurs du total (2) - (3) (tabl. 1), les valeurs du nombre de cellules élaborées / g / jour (tabl. 3) sont du même ordre de grandeur que celles rencontrées dans la littérature pour un sédiment marin proche du rivage (tabl. 4) :

- 3 à $28 \cdot 10^8$ cellules /g/j(ensemble des données)

- 2 à $20 \cdot 10^8$ cellules /g/j (baie de St Brieuc).

{ Seules les valeurs du mois de juin (7 à $72 \cdot 10^8$ cellules/g/j) se rapprocheraient des résultats obtenus par MORIARTY et POLLARD (1981), avec un sédiment enrichi en algues.

C'est au cours de ce même mois que nous constatons un fort gradient entre la station 1 et les stations 2 et 3. Nous devons signaler, ici, le caractère "potentiel "de ces mesures. En effet, par nécessité, nous avons dû agir avec un sédiment isolé de son milieu d'origine, pesé puis inoculé avec une agitation modérée pour permettre un bon contact entre la 3H methyl thymidine et le sédiment.

Si on opère (expérience effectuée en juin seulement) avec des sédiments

$$1 \text{ m}^2 / 1 \text{ cm de sédiment} = \underline{15 \cdot 10^3 \text{ g}}$$

$$20 \text{ cm} \Rightarrow 3 \times 24 \rightarrow 72 \text{ (jours)} = 1 \text{ jour}$$

$$\text{Thymidine transformée} = 0,01 \text{ mol} / 20 \text{ cm} / \text{g sed.}$$

$$\Rightarrow 0,72 \text{ mol} \rightarrow 1 \text{ jour}$$

$$\Rightarrow 72 \times 2 \cdot 10^9 \times 1,8 \cdot 10^{-14} \times 15 \cdot 10^4 \text{ B/m}^2$$

$$72 \times 2 \times 1,8 \times 15 \times 10^{-1} = 2$$

60,48

“ Methode CAMET ”

Methode Classif sur 1 cm

		Thymidine injectée nmol/g	Total *ADN*% (2)+(4)-(3)	Thymidine transformée nmol/g/20mn	Cellules bact. x108/g/j	Carb. bact. en g C/m2/j 1 cm epais.	Carb. bact. en g C/m2/j sur 0,5 cm	Total *ADN*% (2)-(3)	Thymidine transformée nmol/g/20mn	Cellules bact. x108/g/j	Carb. bact. en g C/m2/j sur 1 cm epais	Carb. bact. en g C/m2:J sur 0,5 cm
Station 1	1 Avril	0,07	0,19	0,01	20,00	0,8,00	1,4,00	0,09	0,07	9,00	0,4,00	2,00
	2 Juin	0,06	0,17	0,01	15,00	0,6,00	0,3,00	0,08	0,05	7,00	0,3,00	1,50
	3 Septembre											
	4 Novembre											
Station 2	3 Avril	0,07	0,09	0,01	9,00	2,4,00	0,2,00	0,05	0,04	5,00	2,00	1,00
	4 Juin	0,06	0,39	0,02	35,00	1,4,00	0,7,00	0,29	0,02	26,00	10,00	5,00
	5 Septembre	0,04	0,19	0,01	9,50	0,4,00	0,2,00	0,06	0,00	3,00	1,00	0,50
	6 Novembre	0,06	0,21	0,01	18,00	0,7,50	0,4,00	0,04	0,00	3,00	1,00	0,50
Station 3	7 Avril	0,06	0,05	0,00	4,50	0,2,00	0,1,00	0,04	0,00	3,00	0,1,00	0,50
	8 Juin	0,07	0,76	0,05	72,00	30,00	15,00	0,24	0,02	23,00	10,00	5,00
	9 Septembre	0,04	0,18	0,01	10,00	1,4,00	0,2,00	0,07	0,00	3,00	1,00	0,50
	10 Novembre	0,06	0,12	0,01	10,00	4,00	0,2,00	0,03	0,00	2,00	0,1,00	0,50

$\div 33 = 0,25$

$\bar{x} = 0,83 \quad \bar{x} = 0,42$
 $\sigma = 0,83 \quad \sigma = 0,42$
 $g C m^{-2} j^{-1}$

$\div 33 \quad \bar{x} = 0,34$
 $= 0,10 \quad \sigma = 0,36$
 $124 g C m^2 a^{-2}$
 $\pm 65\%$
 $\pm 80,6\%$
 $\sigma_{\bar{x}} = .11$
 $\pm 2 \cdot .11 = .22$

Tableau 3 . Nombre de cellules et carbone bacterien elaboré par metre carré et par jour dans les deux options de l'ADN considérées : colonnes (2)-(3) du tabl.1 et colonnes (2)+(4)-(3) du tabl.1.

sur 1 cm
 $6 \cdot 10^8$ cf produite pour 1 ml de Th.
 sur 1 cm
 $90,98 g C m^2 a^{-1}$

302 $g C m^2 a^{-1}$
 $151,77 g C m^2 a^{-1}$

37,6 $g C m^2 a^{-1}$
 sur 1 cm

sur 5 cm
 $\sigma = 90$
 $= 180,7 C m^2 a^{-1}$
 $\sigma^2 = 8100$

Methode Classif sur 1 cm

Sample	Bacterial growth rate (cells g ⁻¹ day ⁻¹)
Seagrass sediment (surface zone)	$7.92 \times 10^7 - 8.90 \times 10^9$
Marine sediment (near shore)	$3.45 \times 10^8 - 2.76 \times 10^9$ <i>0,14 2,2 g C m⁻² j⁻¹ sur 1 cm d'ép.</i>
Lake sediment	$1.39 \times 10^6 - 5.94 \times 10^6$
Seagrass sediment	$4.80 \times 10^7 - 6.24 \times 10^8$
Freshwater sediment	3.31×10^6 [7]
Subsurface sediment	$5.10 \times 10^5 - 1.02 \times 10^6$

Tableau 4 . Nombre de cellules élaborées par mètre carré et par jour dans divers interfaces eau-sédiment.

dilués pour moitié et si on agite ces sédiments avant incubation comme lors des comptages bactériens, on obtient alors (tabl. 5) les mêmes résultats pour les trois sédiments: respectivement 0,133 - 0,131 et 0,141 % d'ADN précipité alors que par agitation modérée, on note respectivement 0,079 - 0,290 et 0,242 % de ADN précipité.

L'application de cette technique à des dépôts sédimentaires demande donc de prendre des précautions spéciales afin d'obtenir des valeurs "effectives" et non "potentielles".

Calculs sur l'hypothèse élevée du carbone bactérien élaboré

A partir de 0,0493 nmoles de thymidine transformée, on obtient $0,1 \cdot 10^9$ cellules/gramme/20 minutes d'incubation, soit $7,2 \cdot 10^9$ cellules/g/jour et $20,2 \cdot 10^{-5}$ g de carbone par jour.

Avec un sédiment d'une densité de 1,5 (teneur en eau de 30%), pour 1 mètre carré sur 1 cm de profondeur (soit 100 dm^3), on aboutit à un poids total de ~~150~~ kgs. $1,5 \times 10^4 = \underline{15 \text{ kg}}$

D'où une production :

- sur 1 cm d'épaisseur de ~~30,4~~ g de carbone /m² /jour. } 3,04 g
- sur 0,5 cm d'épaisseur de ~~15,2~~ g de carbone /m² /jour. } 1,52 g

ou 1,01 g et 0,5 g

Sur l'ensemble des résultats (tabl. 3), le plus souvent (sur 0,5 cm d'épaisseur), on relève 0,5 à 1 g de carbone / m² / jour. Seules les valeurs de juin dépassent nettement ce que l'on peut attendre de l'arrivée de matière organique à la surface des dépôts (1 g de carbone / m² / jour). Notons à nouveau ici que les productions relevées en juin ne sont pas exceptionnelles. Elles entrent bien dans le cadre des données de la littérature . Seule l'explication quant à l'origine de la matière organique nécessaire aux bactéries pour justifier de telles productions bactériennes nous manque .

Impérativement, il convient , à ce stade d'investigation, de mentionner la nécessité :

- d'opérer avec le moins d'agitation possible si on veut mesurer une production microbienne "vraie" et non potentielle ,
- de voir dans l'étude des bilans, l'épaisseur sédimentaire à attribuer dans le calcul du bilan de matière carbonée élaborée.

		Extrait NaOH 1N	Total "ADN" (2) - (3)	Total % TCA chaud(4)	Total "ADN" (2) + (4) - (3)
Station 1					
par methode standard	voie extr. A	2,76	0,079	0,087	0,166
	voie extr. B		-----	0,148	0,148
par methode dilution plus agitation	voie extr. A	2,70	0,133	0,425	0,558
	Voie extr. B		-----	0,471	0,471
Station 2					
par methode standard	voie extr. A	3,51	0,29	0,103	0,393
	voie extr. B		-----	0,411	0,411
par methode dilution plus agitation	voie extr. A	2,53	0,131	0,445	0,445
	voie extr. B		-----	0,468	0,599
Station 3					
par methode standard	voie extr. A	2,35	0,242	0,519	0,761
	voie extr. B		-----	0,675	0,675
par methode dilution plus	voie extr. A	2,29	0,141	0,643	0,643
	voie extr. B		-----	0,346	0,487
				0,492	0,492

Tableau 5 . Données recueillies pour les deux options d'extraction (voies A et B) et les deux options d'estimation de l'ADN bactérien (2)-(3) du tabl.1 et (2)+(4)-(3) du tabl.1.

Thème 2

La mesure de la production bactérienne à partir de l'incorporation de thymidine tritiée dans l'ADN a été proposée par FUHRMAN et AZAM en 1980. Depuis, elle a été l'objet de nombreuses investigations tant dans les lacs qu'en mer et, malgré de nombreuses critiques (citons BRITTAIN et KARL (1990), la plus récente), elle n'en demeure pas moins une mesure de base au même titre que l'assimilation de la leucine dans les protéines, proposée plus récemment (KIRCHMAN et al., 1986; CHIN-LEO et KIRCHMAN, 1988).

En fait, le souci majeur demeure le procédé d'extraction et de purification de l'ADN.

La méthyl thymidine ajoutée est souvent rapidement intégrée dans des fractions lipidiques (ROBARTS et al., 1986) ou protéiques, si bien que l'on a proposé:

- le passage à la soude 5N puis précipitation des macromolécules avec TCA 100%

- le lavage des filtres où sont récupérées les macromolécules précipitées par de l'alcool à 80% glacé et par du phénol (WICKS et ROBARTS, 1987). L'alcool facilite la précipitation des macromolécules, élimine les fractions lipidiques et le phénol élimine les protéines non nucléiques.

- la comparaison avec un échantillon soumis à un traitement TCA bouillant qui dissout l'ADN sans toucher aux protéines.

Une méthode plus élégante, mais plus coûteuse, passe par l'hydrolyse enzymatique de l'ARN ou de l'ADN avec un cheminement approprié (SERVAIS et al. 1987).

Après une campagne d'essais en système lagunaire, nous proposons dans le cadre de cette étude:

- l'assimilation totale de ^3H -méthyl thymidine (macromolécules formées plus thymidine intracellulaire) rarement mentionnée et qui semble un bon indicateur d'activité bactérienne globale,

- la totalité des macromolécules par précipitation à TCA 5% final, filtration et lavage du filtre à l'alcool,

- l'estimation de la fraction ADN par passage à la soude 5N puis précipitation avec aliquot de TCA 100% (ROBARTS et al., 1986). On prépare un échantillon filtré, lavé à l'alcool et un autre traité ensuite à TCA 5% bouillant (éliminant l'ADN). L'ADN est obtenu par différence.

I . Réponses des populations naturelles à la ^3H methylthymidine-production bactérienne en pleine eau.

Elles ont été obtenues sur divers échantillons des baies de MORLAIX (5 stations fig. 3) et de St BRIEUC (3 stations correspondant aux prélèvements des sédiments étudiés précédemment (fig. 1).

L'ensemble des données (tabl. annexe) laisse apparaître des gradients importants dans le temps et dans l'espace.

Dans le temps pour la baie de St Brieuç (fig.4) avec une forte production d'ADN bactérien dans les eaux proches du littoral (st3) en juin, déjà active au niveau du sédiment.

Ces résultats tout à fait préliminaires indiquent que les eaux de cette baie entre les mois d'avril et de juin offrent de grandes différences dans la production de cellules bactériennes (sur la base de $2,2 \cdot 10^8$ cellules bact. élaborées par nmole de thymidine transformée en ADN):

transformation en ADN de 0,00075 nmole thymid./l/h en avril et 0,0117 nmol/l/h en juin, soit respectivement une production de $1,5 \cdot 10^6$ et $23 \cdot 10^6$ cellules /l/h.

Une filtration sur 3 μm et 1 μm abaisse notablement cette production en juin, mais ne la dérange pas en avril. La charge en particules intervient donc fortement dans la mesure de la production des cellules bactériennes de ces systèmes estuariens.

Avec la baie de Morlaix, on constate d'amont en aval (fig. 5):

- un gradient décroissant dans la capture "totale" de ^3H methylthymidine entre les stations 1, 2, 3, 4. Il est surprenant de constater une reprise d'activité avec la station 5, mais elle est, peut être, due à une microflore différente, bien que peu nombreuse (tabl. annexe);

- une filtration 3 μ pratiquée sur les échantillons diminue notablement cette capture totale sauf pour les stations 3 et 4 présentant peut être des particules plus fines;

- des rendements variés en ADN bactérien élaboré.

Dans une communauté naturelle, on constate donc, avec la dilution des eaux continentales dans le courant de la marée, une diminution progressive dans la capture totale de ^3H methylthymidine alors que la flore totale (fig. 5A) varie peu.

Le test à la "thymidine" est applicable ici dans l'expression d'une mesure globale d'activité bactérienne et se calque bien avec les bactéries cultivables sauf pour la station 5, plus marine.

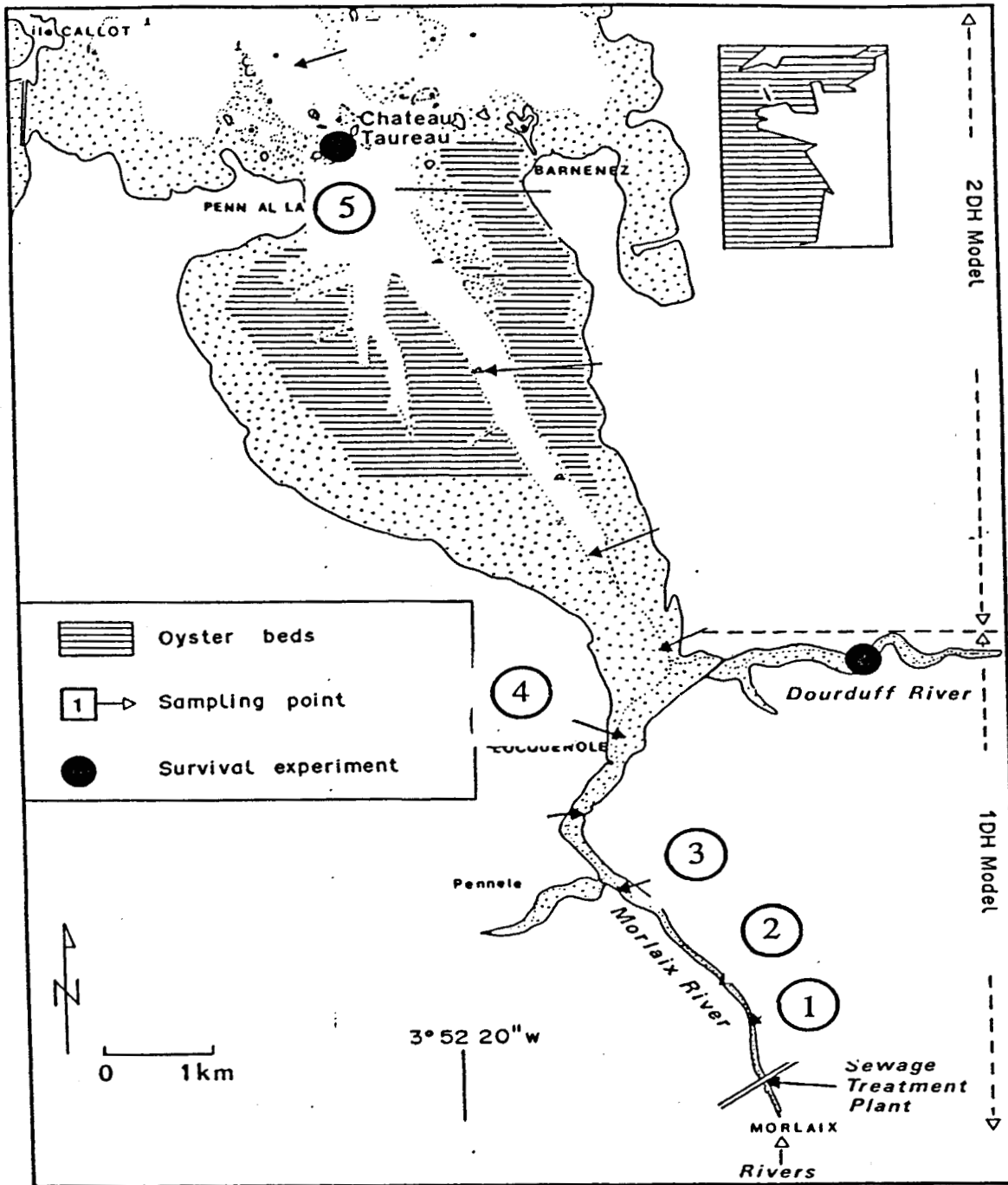


Figure 3 . Baie de Morlaix : stations d'étude.

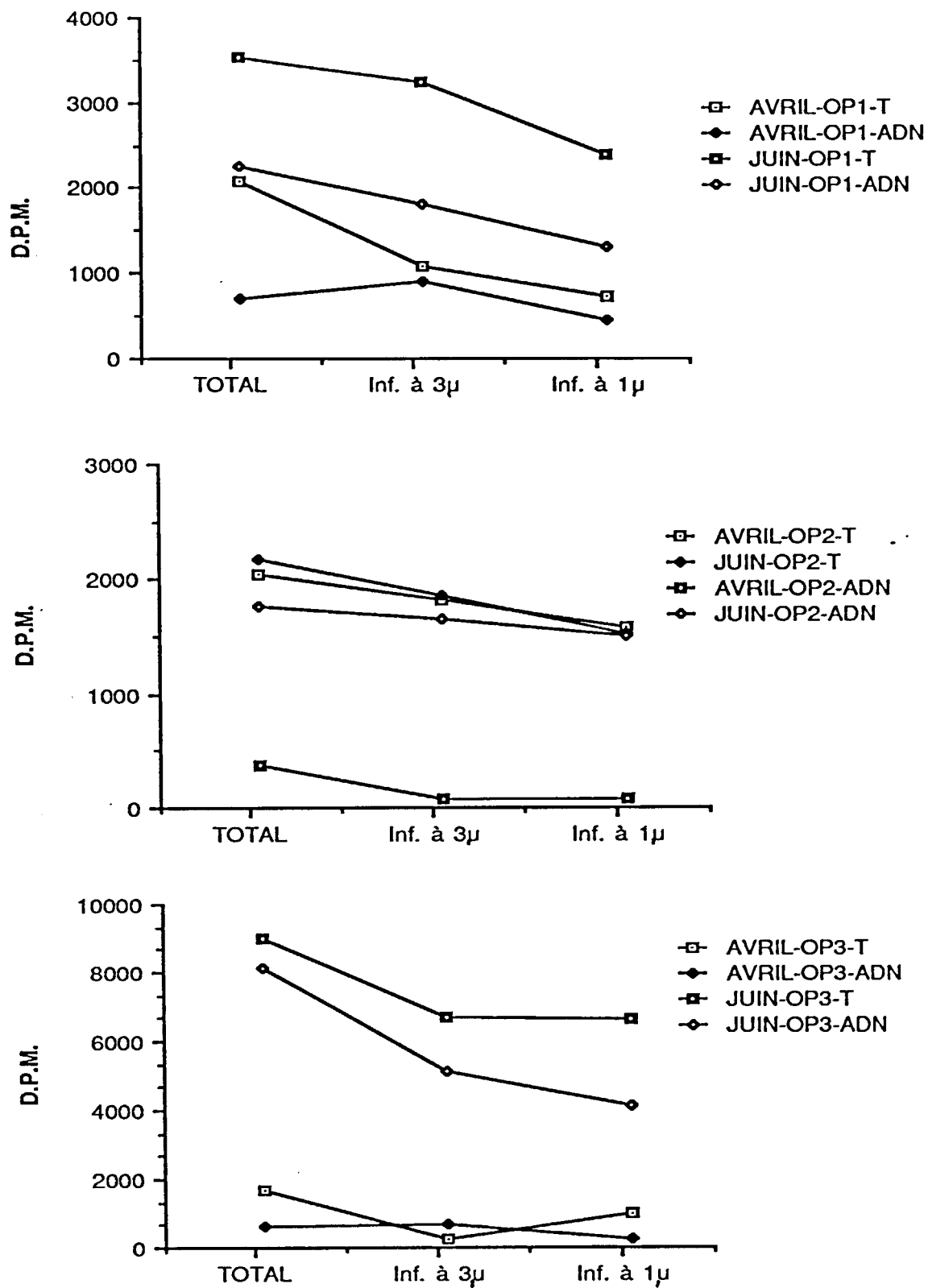


Figure 4 . Résultats obtenus sur divers échantillons d'eau de la baie de St Brieuc avec 3H Me-Thy. comme précurseur (en d.p.m. sur les stations OP1,OP2,OP3).

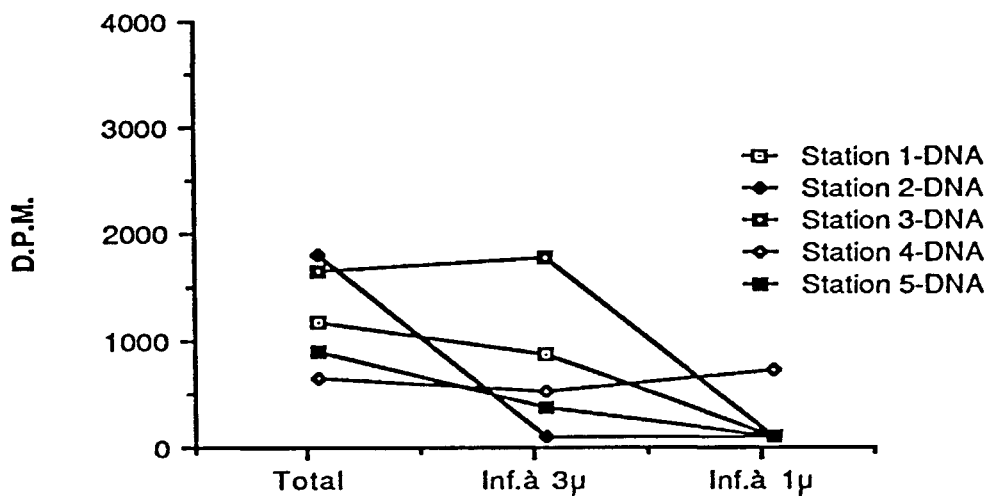
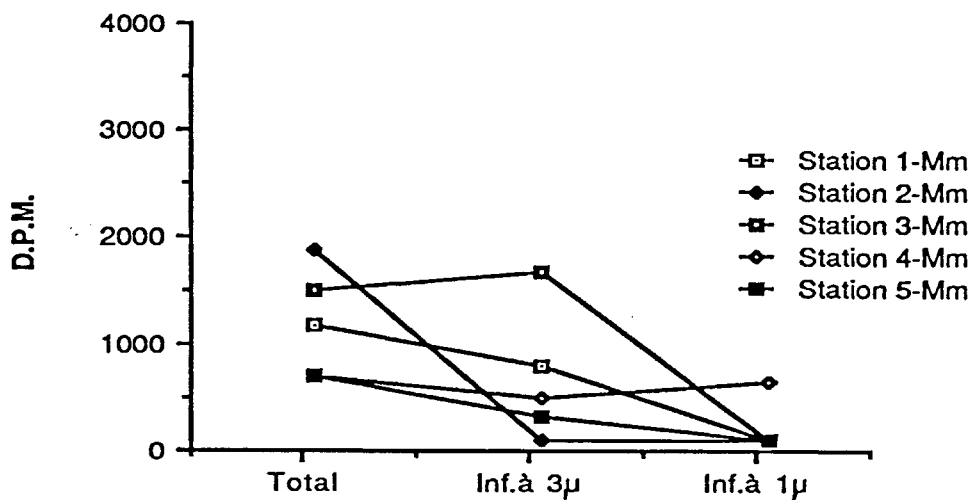
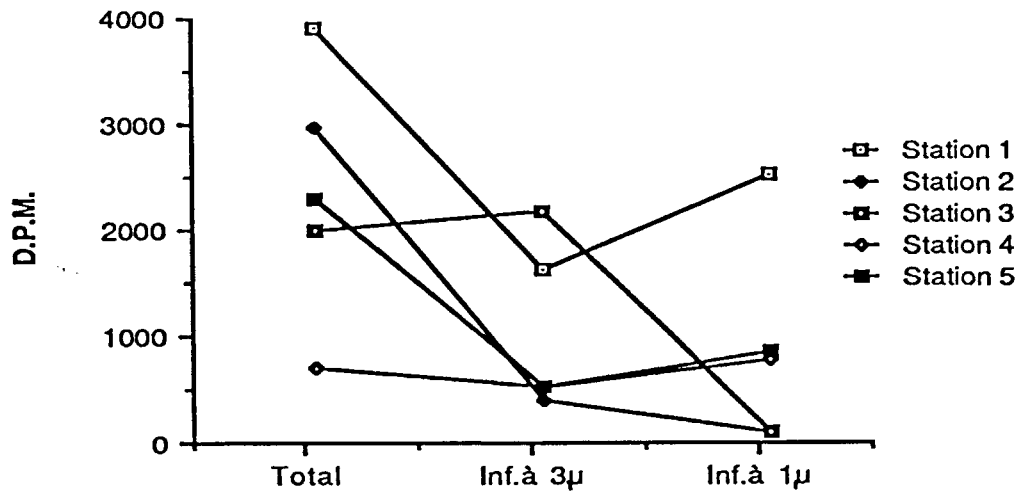


Figure 5 . Résultats obtenus sur les échantillons d'eau de la baie de Morlaix selon un gradient amont-aval avec $^3\text{H Me-Thy}$ comme précurseur (en d.p.m. sur échantillon total, échantillon préfiltré 3μ et échantillon préfiltré 1μ).

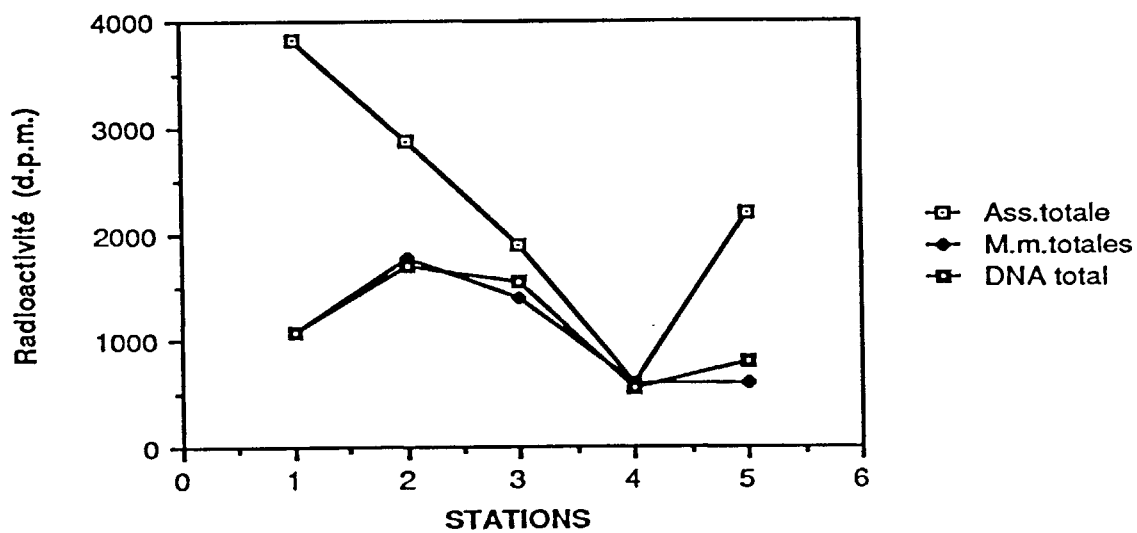
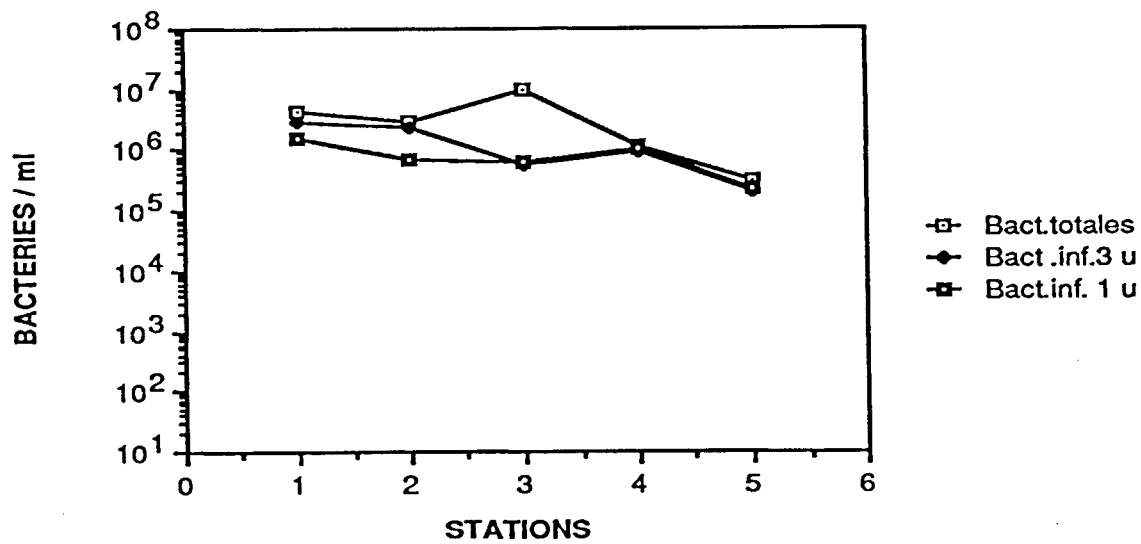
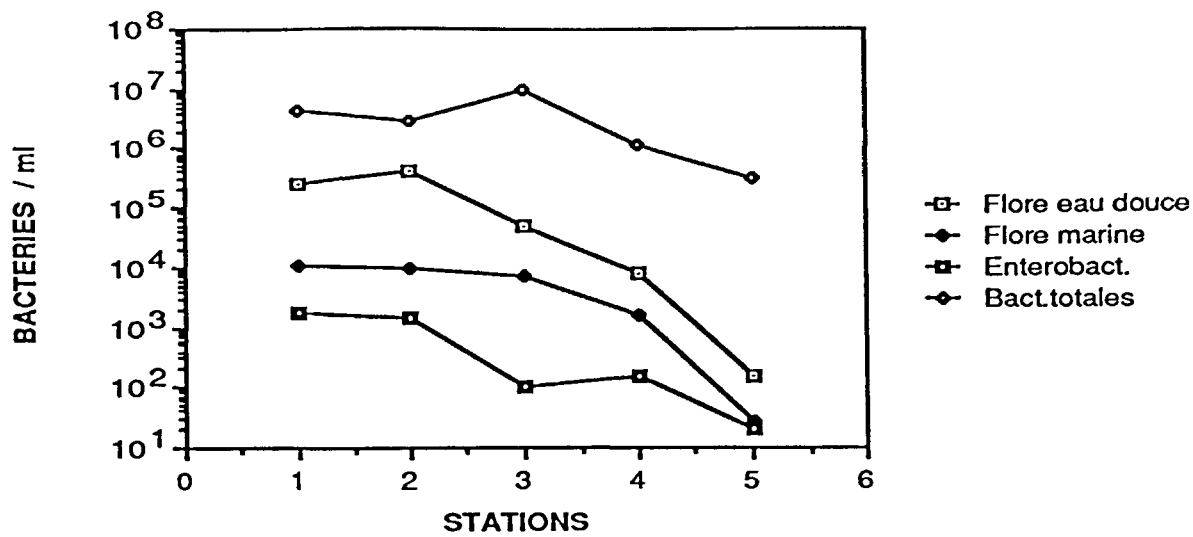


Figure 5A . Comparaisons entre les numérations totales et viables de bactéries et la capture de ³H Me-Thy. pour les 5 stations d'étude de la baie de Morlaix.

La filtration 3 μ généralement préconisée pour supprimer l'effet des prédateurs sur les bactéries présentes gêne considérablement la mesure. L'assimilation totale de méthylthymidine marquée par l'échantillon préfiltré 3 μ est notablement diminuée sauf pour les stations 3 et 4. Celles-ci offrent peut être des particules plus fines passant au travers de cette barrière physique des 3 μ . On peut aussi penser pour les stations 1 et 2 à des floccs bactériens ou particules plus nombreuses dans ces eaux chargées (tabl. annexe).

L'élaboration de macromolécules et en particulier de l'ADN ne suit pas la même logique que celle évoquée précédemment pour la capture totale du traceur. Il existe des rendements variables dans le pourcentage d'ADN formé à partir de la méthylthymidine captée. Pour les stations 2, 3, 4, le rendement est bon pour les stations 1 et 5, il ne l'est pas.

Cet aspect est fondamental dans le devenir d'une masse d'eau puisque le nombre de cellules élaborées peut passer de $1,6 \cdot 10^5$ à $28 \cdot 10^6$ cellules/l/h pour des stations peu éloignées les unes des autres et expliquer certaines observations faites dans le temps sur l'évolution des bactéries viables.

Peut-on faire de même lors d'expériences suivies en mésocosmes avec des souches pures?

II . Survie d'une souche E.Coli en présence ou absence de lumière

Une souche préparée dans des conditions précises et soumise à l'effet de la lumière en enceinte thermostatée a été suivie au cours d'un cycle de 24 h à l'aide des paramètres suivants:

- numération totale
- bactéries viables
- assimilation de ^3H méthylthymidine.

L'opération a été menée avec 3 flacons de culture A, B, C soumis à l'effet naturel de la lumière par opposition à un flacon D placé à l'obscurité. Conjointement, une culture a étéensemencée (flacon E) afin de suivre les relations numérations-activité "thymidine" lors du développement de la souche pure en milieu nutritionnel standard.

Malgré le faible marquage relevé, les résultats obtenus (fig. 6 et fig.6A) font apparaître :

- une chute dans l'assimilation totale et dans les macromolécules des microflores des flacons A et C à partir de la 5^{ème} heure. Elle correspond, à la même période, à une baisse notable dans les numérations de bactéries viables, les valeurs en numération totale n'étant pas modifiées .

- une réponse anormale de la part du flacon B. Il ne présente durant le cycle d'étude aucune variation dans chacune des fractions radiomarquées examinées.

On comprend mieux ces observations quand on suit le développement de la même culture (flacon E). Ce n'est qu'en phase exponentielle tardive (fig.6B) ou en phase de saturation que la culture absorbe la méthylthymidine et la transforme en ADN. Elle n'est pas "thymidine +" et élabore son ADN sans thymidine marquée présente. Nous avons là une explication possible des faibles taux d'assimilation enregistrés pour les flacons d'expériences A, B, C .

Toutefois, une expérience menée avec ajout (sur 11 heures) d'acide nalidixique et d'extrait de levure (methode KOGURE) indique un autre volet de la technique de marquage à la thymidine : sa sensibilité (Fig 7). En effet, les échantillons A, B, C, ne montrent, dans ces conditions et après 3 et 8 heures d'incubation à la lumière naturelle, qu'une faible reprise dans l'assimilation de 3H méthylthymidine, comme si la souche était moribonde, sans possibilité de reprendre sa croissance. Par contre, le flacon D a manifesté une nette reprise dans l'assimilation totale et l'élaboration d'ADN, mieux toutefois après 5 heures qu'après 14 heures d'exposition à l'obscurité. L'ajout d'extrait de levure a bien fonctionné dans l'élaboration d'ADN pour ces cellules placées à l'état latent (obscurité), mais n'a (logiquement) pas fonctionné pour les cellules stressées par la lumière .

C'est là un premier résultat quant à la réponse biochimique à la méthylthymidine de cellules stressées . Les cellules placées à la lumière ont beaucoup de difficultés voire une impossibilité à reprendre leur synthèse d'ADN et ce dès les premières heures d'illumination. Dans le schéma de ROSZAK et COLWELL (1987), elles figureraient alors comme "dormant somnicell".

La démonstration mériterait d'être poursuivie avec une souche plus favorable à l'égard de la thymidine comme précurseur d'ADN.

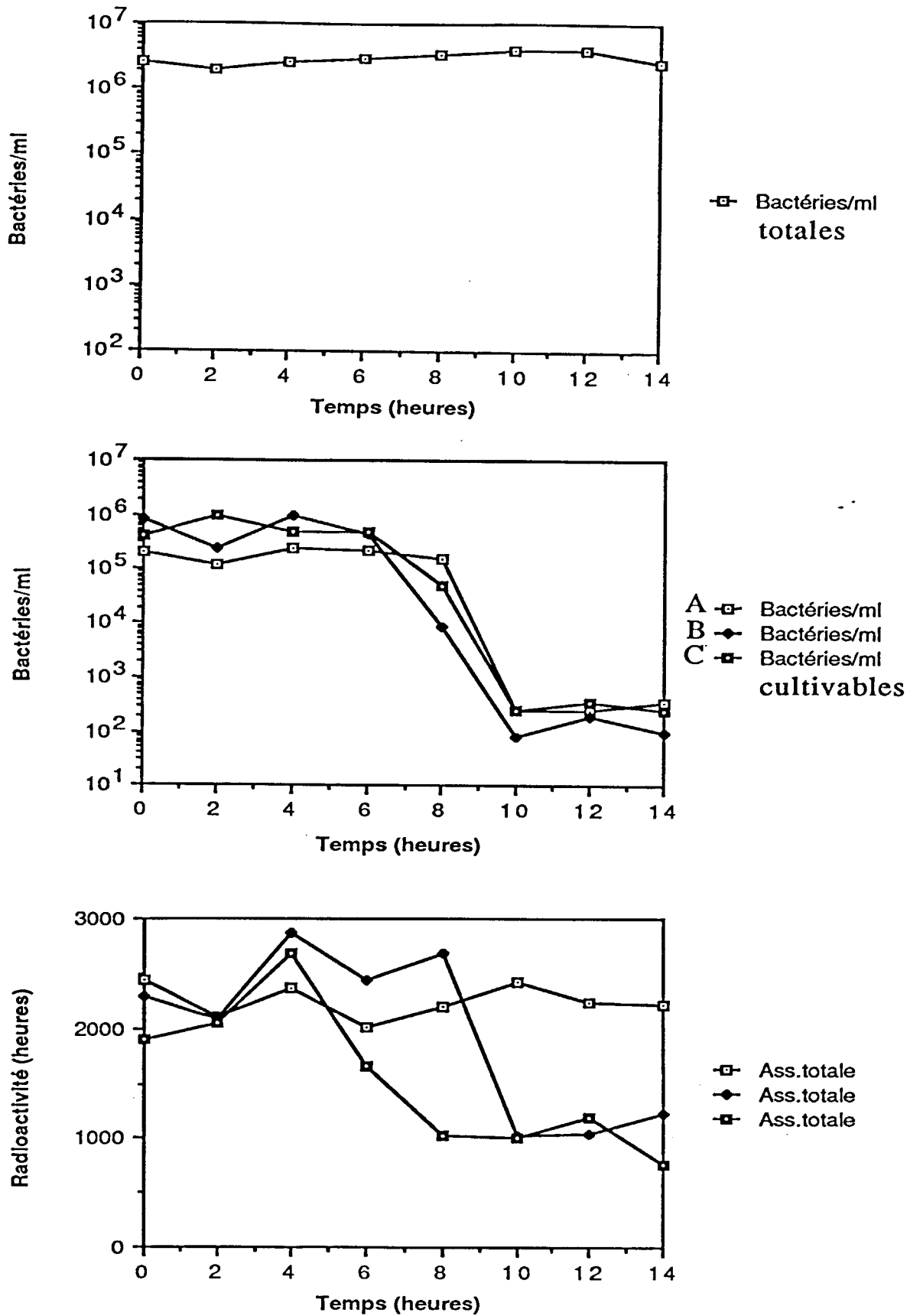


Figure 6 . Réponses dans le temps de E.coli à la 3H Me-Thy (total assimilé). Comparaison avec les bactéries totales et les bactéries cultivables (flacons A,B,C) soumises à un effet de la lumière naturelle.

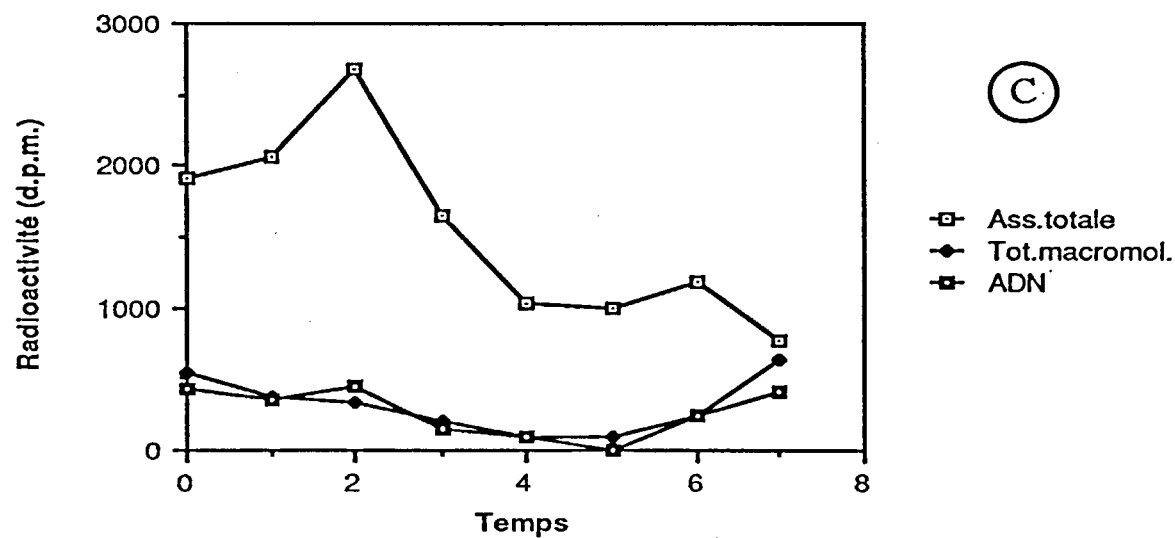
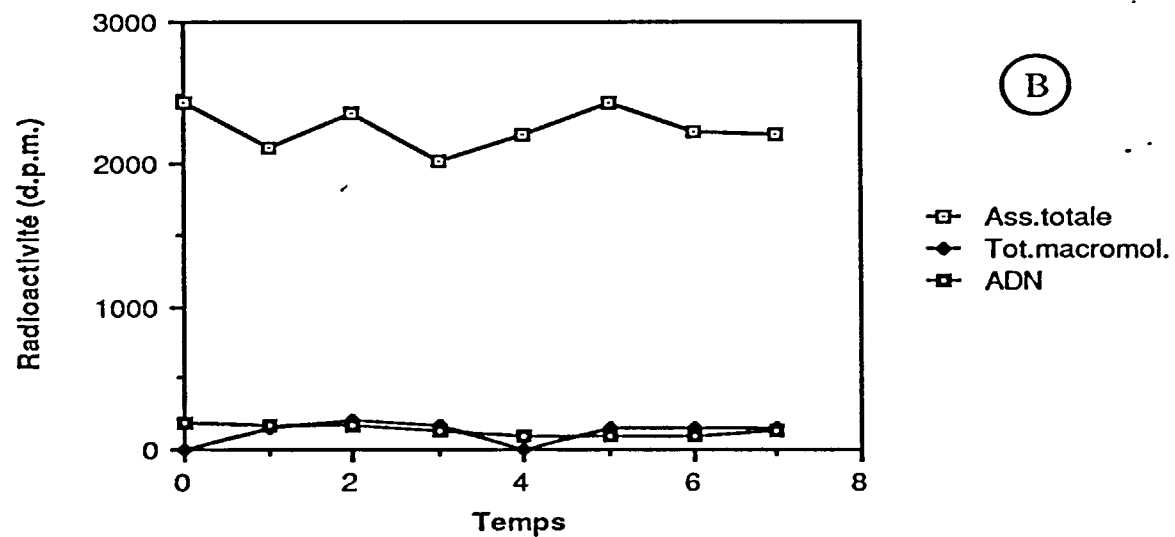
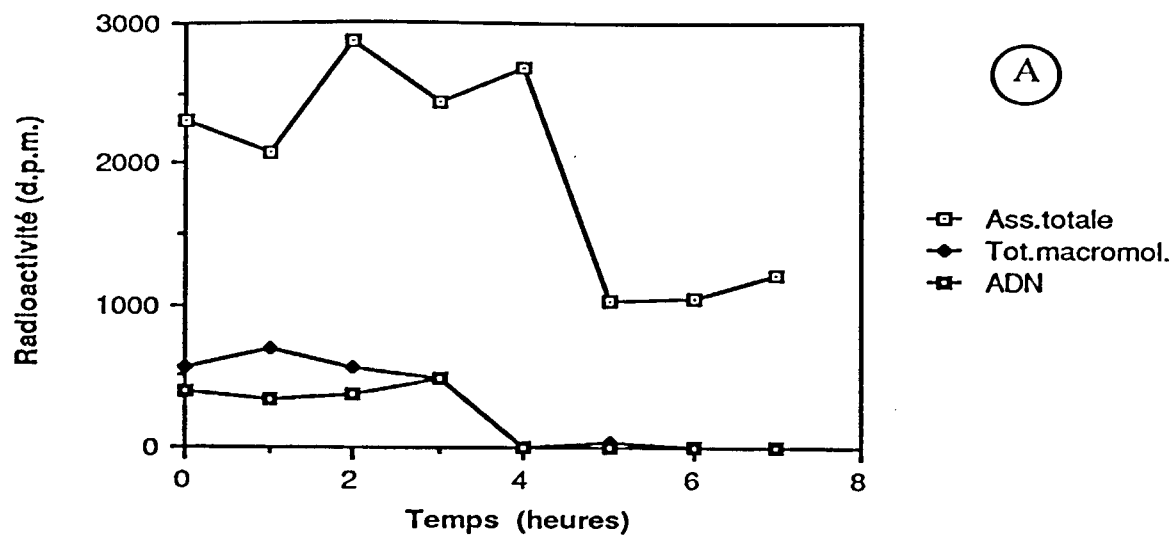


Figure 6A. Réponses dans le temps de E.coli à la 3H Me-Thy pour trois flacons de culture A,B,C placés en survie 8 heures à la lumière (total assimilé , macromolécules,ADN).

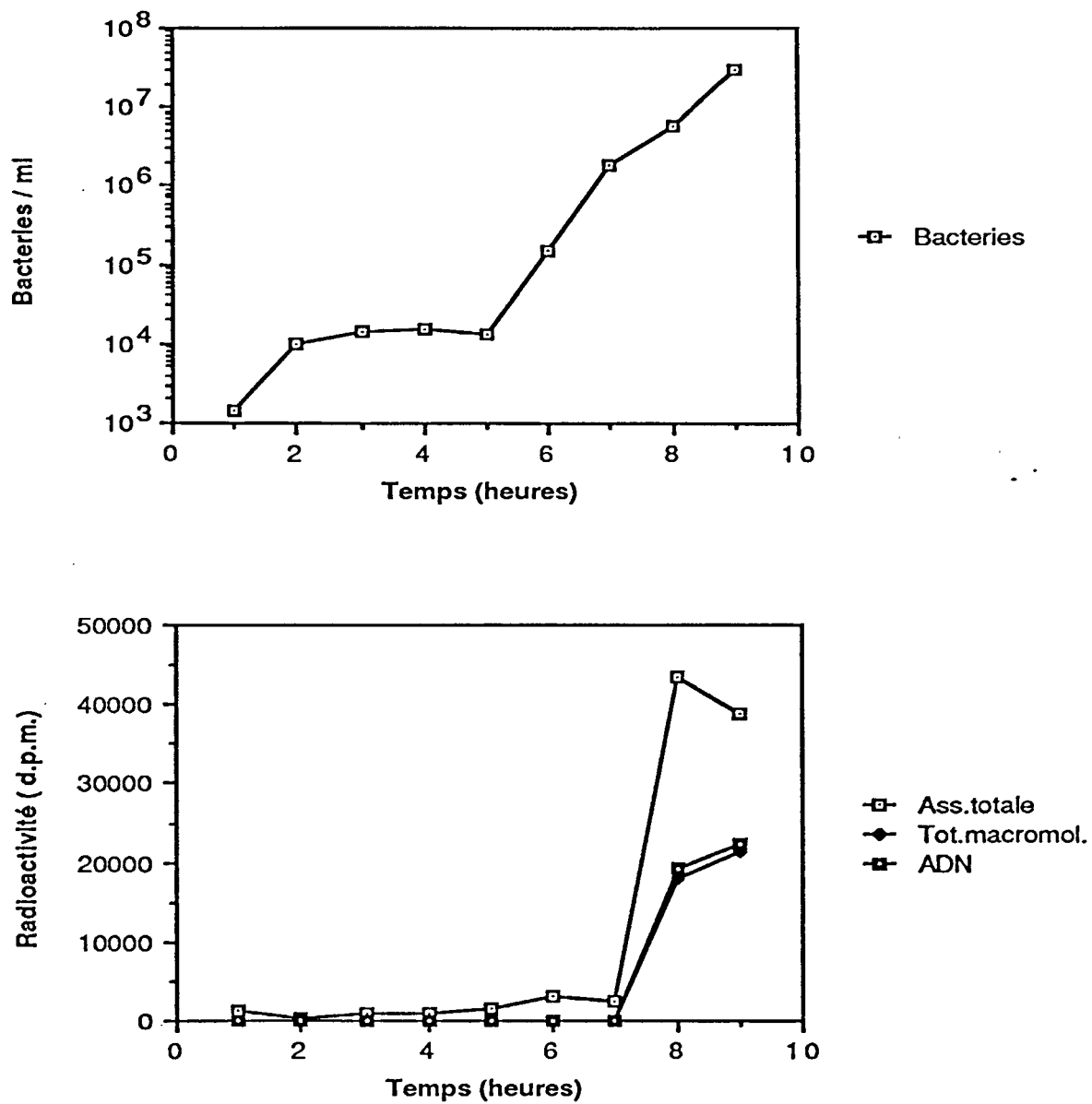


Figure 6B. Réponses dans le temps de *E. coli* à la ^3H Me-Thy et évolution de la flore cultivable dans une culture en croissance (flacon E)

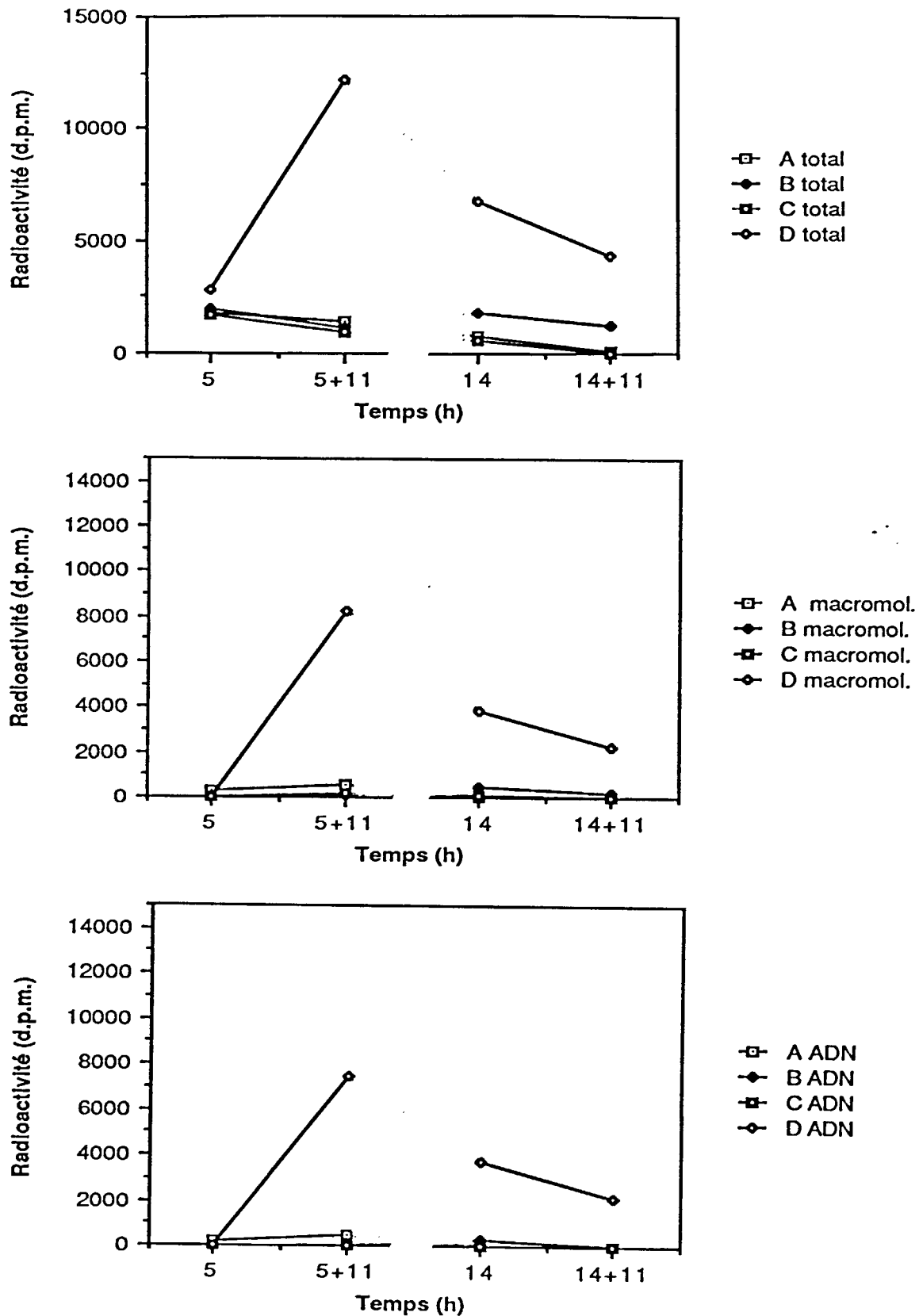


Figure 7 . Réponses de *E.coli* à la Me-Thy (durée d'incubation 30 minutes) pour des cultures prélevées dans les flacons A,B,C,D aux temps 3 h. et 8 h. puis soumises à l'ajout d'extrait de levure et d'acide nalidixique (methode KOGURE de blocage de cellules en division) pendant 11 heures.

III . Devenir de cellules vivantes marquées (type E.Coli) lors de leur capture par un organisme filtreur.

Un autre aspect a été abordé dans cette étude, c'est le suivi de cellules bactériennes marquées lors du transit digestif chez un filtreur (*Venus verrucosa*). Nous possédions, en effet, une certaine expérience quant aux taux de filtration, taux d'assimilation de molécules dissoutes et taux de capture d'une bactérie marine *Lactobacillus* sp. L'aboutissement de ces investigations a été la mise en modélisation de ces taux par échanges intercompartimentaux .

Qu'en est-il avec *Escherichia coli* ?

A- Caractérisation de la bactérie en tant que nourriture pour le bivalve

Relation densité optique-concentration

Cette relation a été établie afin de permettre une évaluation simple et rapide de la concentration en bactéries d'une suspension. Les bactéries cultivées pendant 5 heures, sont centrifugées puis remises en suspension dans de l'eau de mer après élimination du surnageant. Le comptage des bactéries viables est effectué à partir de cette suspension.

Une gamme de dilutions est réalisée afin d'établir la relation densité optique/concentration en bactéries. La densité optique des différentes dilutions est mesurée à 600nm.

La relation obtenue est présentée figure 8. Il existe une très forte corrélation entre la concentration en bactéries viables et la densité optique ($r = 0,98$, $n = 29$, $p < 0,001$, Hayslett 1981).

Pour chaque expérience de nutrition un étalement sur gélose a été effectué afin de vérifier cette relation. Cependant , par deux fois cette relation n'a pas été vérifiée, nous amenant à sous estimer la concentration en bactéries viables.

Cette relation reste pourtant le seul moyen d'évaluer à priori le nombre de bactéries introduites dans un système expérimental.

Evolution de la concentration d'une suspension de E. coli dans l'eau de mer

L'évolution de la concentration de la suspension de E.coli dans l'eau de mer a été suivie en fonction de temps.

La concentration en bactéries totales et en bactéries viables a été mesurée à différents intervalles de temps: 4, 10, 20, 50 et 100 heures.

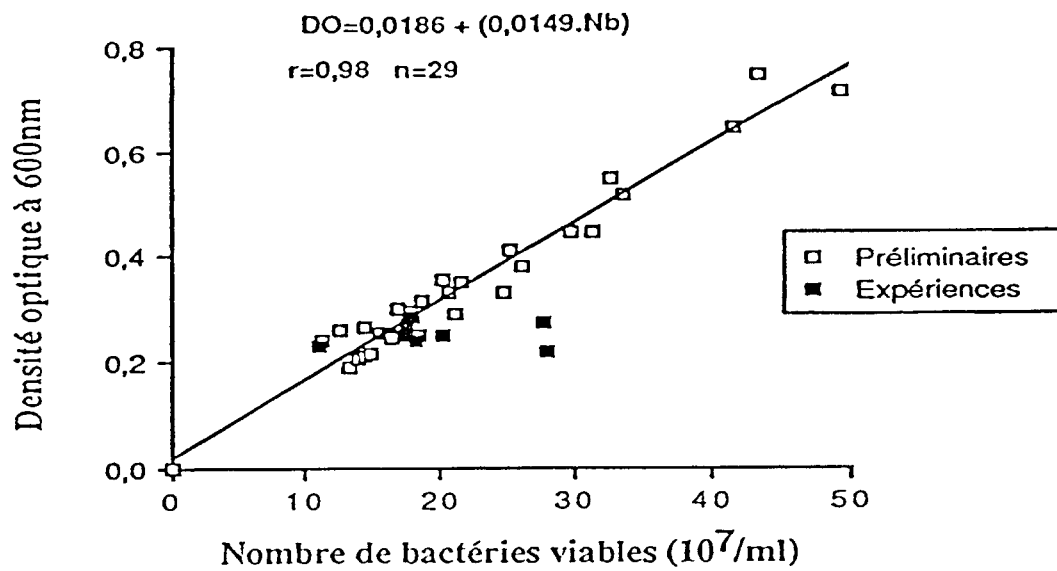


Figure 8 . Relation entre la concentration en E.coli viable et la densité optique à 600 nanomètres. Les mesures sont effectuées dans l'eau de mer filtrée sur 5 u.

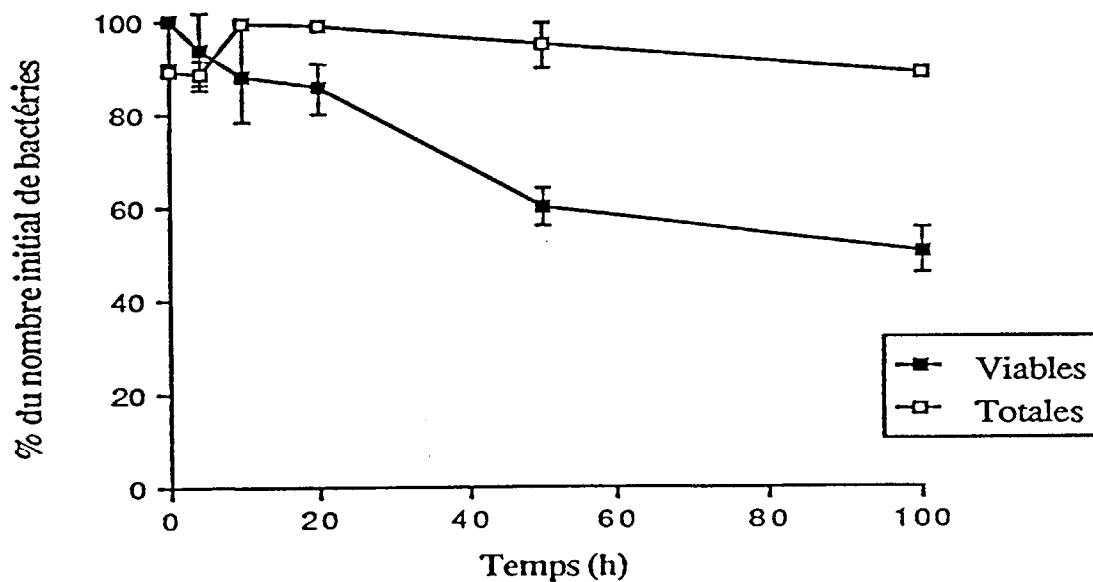


Figure 9 . Evolution du nombre de bactéries totales et du nombre de bactéries viables contenues dans une suspension d'E.coli placée dans les conditions des expériences de nutrition (eau de mer filtrée sur 5 u, 15°C, obscurité). Les barres verticales correspondent aux écart-types des mesures expérimentales.

Les numérations ont été réalisées sur 3 repliquats. Pour chaque repliquat un comptage direct des bactéries totales et un comptage des bactéries viables ont été effectués. Le nombre des bactéries totales reste constant au cours du temps (93,4% du nombre initial après 100h), cependant le nombre de bactéries viables diminue de façon très nette: on ne compte plus que 52% des bactéries viables initiales après 100 heures (Figure 9). Ces résultats nous ont amené à prendre en considération le nombre de bactéries totales plutôt que le nombre de bactéries viables dans les expériences qui vont suivre.

Marquage et Rendement de marquage de E.coli.

Les bactéries ont été marquées à l'Acide Glutamique U-14C. Les conditions optimales de marquage ont été déterminées par une série d'expérimentations comparatives: le marqueur a été introduit dans la culture par dose de 0,5 uCi à des intervalles de temps différents. Les durées d'incubation ont été successivement de: 3, 4 et 5 heures. Les cultures sont ensuite filtrées sur membrane Millipore de 0,22um de porosité afin de séparer les bactéries et les produits radioactifs non incorporés.

Le rendement de marquage (Rdt) est déterminé par le rapport entre la radioactivité incorporée dans les bactéries sur le filtre (Bact) et la somme de la radioactivité incorporée dans les bactéries et celle non incorporée (Non Inc) collectée dans le filtrat.

Cette valeur est exprimée en pourcentage suivant la formule:

$$\text{Rdt} = \text{Bact} / (\text{Bact} + \text{Non Inc}) \times 100$$

Le pourcentage de radioactivité totale incorporée par la culture de Escherichia coli est calculé pour les différentes conditions expérimentales dont les résultats sont comparés sur le tableau 6.

Incorporation de l'acide glutamique à:	Durée d'incubation (Heures)		
	3	4	5
To	11,7	18,7	20,9
To + 1 h	11,3	19,1	21,0
To + 2 h	11,9	20,8	21,0

Tableau 6: Influence de l'instant d'incorporation et de la durée d'incubation sur le rendement de marquage de E. coli.

Ces résultats suggèrent que l'instant d'introduction de l'acide glutamique marqué n'influe pas sur le rendement de marquage par contre la durée d'incubation la plus longue détermine le rendement le plus élevé: les valeurs obtenues après 4 et 5 heures d'incubation conduisent à des

rendements de marquage de 20% contre 11% après 3 heures.

Evolution du rendement de marquage

L'évolution de la radioactivité contenue dans une suspension de E.coli dans l'eau de mer a été suivie pour chaque durée d'expérience: 4, 10, 20, 50 et 100 heures.

Une quantité de bactéries radioactives correspondant à 10 mg de poids sec est introduite dans 3 enceintes expérimentales. A la fin de chaque expérience et pour chaque enceinte, la radioactivité est mesurée dans les 3 compartiments c'est à dire dans les bactéries, les produits dissous et le CO₂. Les résultats sont exposés figure 10 .

La radioactivité ne varie pas de façon significative en fonction du temps (ANOVA de Kruskal-Wallis; $0,1 < p < 0,2$). Après 100 heures 93% de la radioactivité sont contenus dans les bactéries. La radioactivité sous forme dissoute ne représente que 3,2% après 100 heures et la radioactivité sous forme de CO₂ représente 3,8% de la radioactivité totale.

On peut donc considérer que le marquage de Escherichia coli à l'acide glutamique est stable dans le temps lorsque la bactérie est dans l'eau de mer. La radioactivité est donc un bon indicateur de la quantité de bactéries présentes.

La mesure de radioactivité présente trois avantages par rapport aux numérations bactériennes totales:

- elle est spécifique d'Escherichia coli
- sa mesure est plus précise
- elle permet d'estimer le coefficient d'assimilation des consommateurs potentiels de cette bactérie (Amouroux et al. 1989, Grémare et al. 1989).

Ces résultats permettent donc de baser le reste de l'expérimentation sur les mesures de radioactivité.

B. Filtration et consommation de E.coli par Venus verrucosa

Protocole expérimental.

L'expérimentation a été conduite en système semi confiné suivant le protocole suivi par Amouroux (1982) avec Venus verrucosa.

Les animaux sont introduits par lots de 5 (correspondant à 5 grammes de poids sec de matière vivante) dans les enceintes expérimentales contenant 1 litre d'eau de mer filtrée additionnée de 10 mg de bactéries marquées.

L'aération est assurée par un bullage léger évacuée sur des pièges à CO₂ permettant de collecter la fraction gazeuse du CO₂ produit dans l'enceinte.

Les expériences sont réalisées par 3 de façon simultanée, pour chacune des durées d'incubation (4,10, 20, 50 et 100 heures).

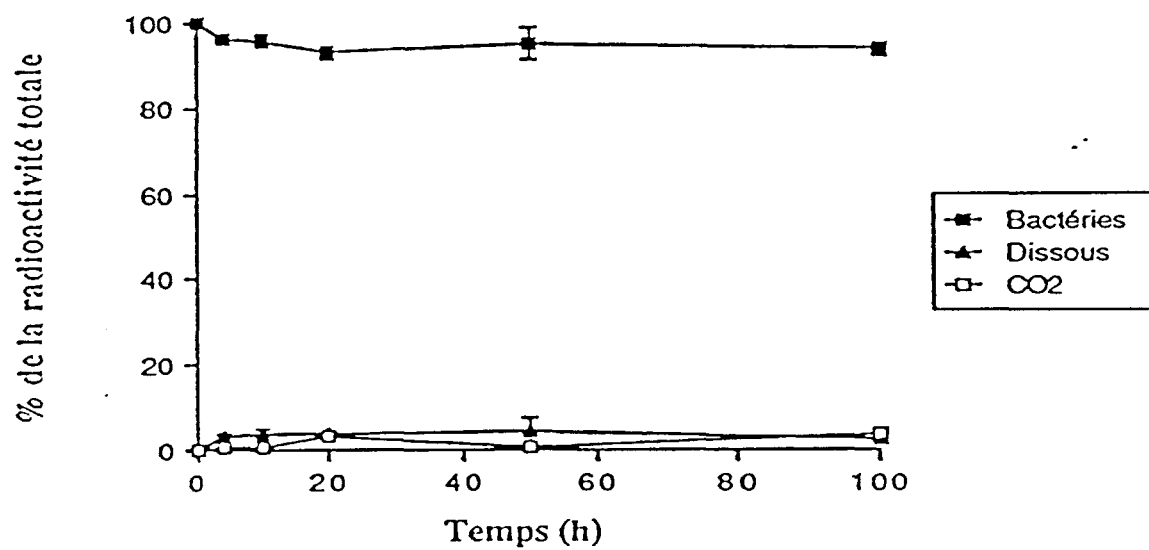


Figure 10 . Evolution de la radioactivité contenue dans une suspension de E.coli placée dans les conditions des expériences de nutrition (Eau de mer filtrée sur 5 microns, 15°C, obscurité). Les barres verticales correspondent aux écart-types des mesures expérimentales.

La radioactivité initiale introduite est mesurée à partir de deux aliquotes de 5ml de la suspension bactérienne.

La radioactivité est mesurée dans les différents compartiments du système: le corps des animaux, les produits dissous, le particulaire déposé ou en suspension, le CO₂ (Figure 11).

En fin d'expérience, les bivalves sont disséqués en 5 parties: manteau, branchies, pied, muscles et hépatopancréas. Les résidus et liquides de dissection sont collectés et analysés séparément. Ces différentes fractions sont hydrolysées et analysées par aliquotes. La radioactivité de l'eau de l'enceinte est analysée après filtration (0,22 µm) afin de séparer la fraction Particulaire des Produits Dissous. Le CO₂ dissous est mesuré à partir de sous échantillons de 200 cm³ acidifiés sous enceintes closes et munies de pièges à CO₂. Les différentes mesures de radioactivité sont effectuées en scintillation liquide.

Résultats.

La variation de la radioactivité dans les différents compartiments du système (Figure 12) peut être divisée en 3 phases distinctes: la filtration de la suspension, la biodéposition des produits filtrés et ingérés puis la reconsommation des biodépôts (recyclage). La filtration de la suspension s'effectue en 10 heures, la biodéposition a lieu entre 10 et 50 heures, le recyclage des biodépôts a lieu entre 50 et 100 heures. Simultanément, la production de substances dissoutes est régulière et la production de CO₂ a lieu suivant deux phases distinctes de 0 à 5 heures et de 50 à 100 heures. La radioactivité du Particulaire chute de 70% pendant les 10 premières heures puis augmente et atteint 49% vers 50 heures et diminue pour ne plus représenter que 8,5% après 100 heures.

La radioactivité dans le corps des animaux est répartie de façon inégale dans les différentes fractions déterminées : la plus grande partie de la radioactivité est contenue dans la masse viscérale (60% de la radioactivité contenue dans l'animal). Cette valeur n'évolue pas de manière significative au cours du temps (ANOVA de Kruskal-Wallis, $0,5 < p < 0,7$). La radioactivité contenue dans la branchie et le pied évolue de manière hautement significative (ANOVA de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). Toutefois ces quantités restent très limitées (6 et 3,3% respectivement après 100h). La radioactivité contenue dans le muscle évolue de façon significative (ANOVA de Kruskal-Wallis, $0,02 < p < 0,05$) mais reste, elle aussi, limitée (5,3% après 100h). La radioactivité dans le manteau semble augmenter au cours du temps pour représenter 15% de la radioactivité totale contenue dans le corps de l'animal après 100h. Cependant la radioactivité dans cet organe n'est pas statistiquement significative (ANOVA de Kruskal-Wallis, $0,2 < p < 0,3$).

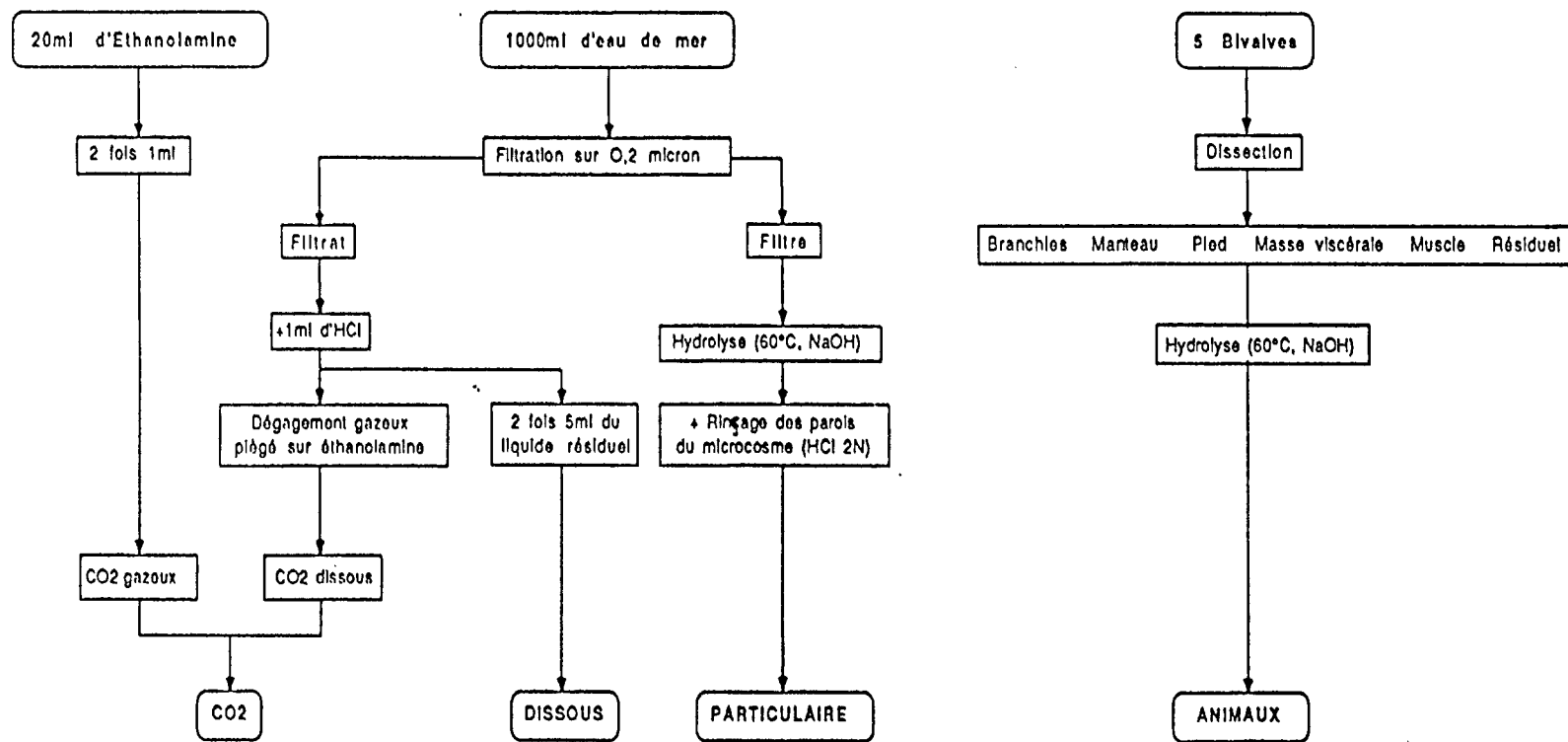


Figure 11 . Organigramme montrant les principales opérations conduisant à l'évaluation de la radioactivité contenue dans les compartiments analysés.

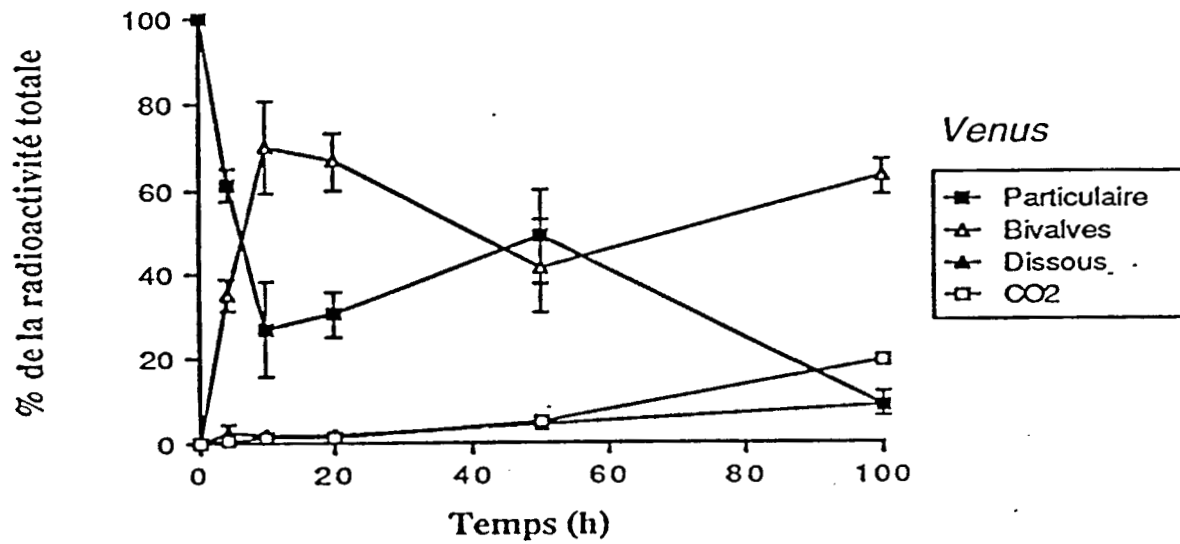


Figure 12 . Etude expérimentale de la filtration d'une suspension d'E.coli par *Venus verrucosa*. Evolution de la radioactivité contenue dans les compartiments Particulaire, Bivalves, Dissous et CO2. Les barres verticales correspondent aux écart-types des mesures expérimentées.

Analyse des biodépôts

Les résultats des expériences ont montré que *Venus verrucosa* est capable de filtrer la suspension de *E.coli* avec efficacité, cependant rien n'indique que *E.coli* soit digérée de façon aussi efficace.

Une série d'expériences ont été réalisées dans des conditions identiques aux précédentes mais sans marquage préalable des bactéries. Les premiers fèces produits ont alors été délicatement pipettés avec élimination partielle de l'eau surnageante. Les fèces ont alors été remis en suspension dans une quantité d'eau distillée stérile. Une gamme de dilution a été effectuée afin de réaliser une numération des *E.coli* viables. Le nombre de bactéries présentes dans l'eau de mer filtrée est de l'ordre de 10^2 à 10^3 . Les bactéries commensales des bivalves se développent lentement (2 à 3 jours). Les colonies comptées sur gélose après 24h à 40°C sont donc bien de *E.coli*.

La concentration de *E.coli* en suspension dans l'eau de mer à T₀, est de $26,8 \cdot 10^6$ bactéries/ml. A T₁, les 2 échantillons contiennent 64 à $69 \cdot 10^8$ bactéries viables:

Escherichia coli n'est donc pas rendue inactive par un simple passage dans le tube digestif de *Venus verrucosa*.

Cet animal semble donc, dans un premier temps, faciliter la sédimentation de *E.coli* par simple biodéposition.

Questions posées par l'étude

Calcul des vitesses de filtration et des quantités filtrées

Les mesures expérimentales ne permettent pas la mesure directe de la vitesse de filtration et des quantités du fait de l'absence de séparation de l'eau filtrée par l'animal de celle contenue dans l'enceinte et du recyclage des biodépôts. Le calcul des vitesses de filtration suivant les formules de Winter (1969) n'est possible que si aucun recyclage n'a lieu.

Production des biodépôts et importance du recyclage

La production des biodépôts peut être mesurée directement en collectant les quantités déposées au fond mais cette mesure n'est valable que si ces biodépôts peuvent être collectés dans leur totalité et à mesure de leur production. Cependant cette collecte affecte en général le comportement des animaux en introduisant une perturbation dans le système. Les bactéries rejetées dans les biodépôts sont intactes pour la plupart.

Le recyclage des biodépôts détermine les quantités réellement filtrées et consommées: la mesure expérimentale ne permet pas d'appréhender cette

mesure de façon directe puisque les mesures sont effectuées sur le particulaire in toto.

Quantités ingérées et assimilées à partir de la suspension et à partir du recyclage

La détermination des quantités ingérées directement à partir des mesures expérimentales n'est pas possible du fait du recyclage potentiel d'une partie des excréments.

Les quantités assimilées sont calculées par la somme des quantités consommées sous forme particulaire (bactéries, biodépôts) et dissoute moins les quantités rejetées sous forme de biodépôts. Le calcul de ces différentes valeurs ne peut pas être effectué à partir des seuls résultats expérimentaux.

Pour répondre à ces différentes questions il semble indispensable de compléter cette étude par la réalisation d'un modèle du système "Bactéries-Bivalves", afin de disposer d'un outil de calcul le plus complet possible prenant en compte les différentes interactions et échanges entre les différents compartiments concernés.

Stations	Salinité	Turbidité	Flore eau douce	Flore marine	Enterobact.
1	1	18	2,5e+5	1,06e+4	1,7e+3
2	1,8	33	4e+5	1,03e+4	1,5e+3
3	8	12	4,9e+4	7,1e+3	1,05e+2
4	31	5,5	8e+3	1,6e+3	1,5e+2
5	34,8	4,1	1,5e+2	27	20

Bact.totales	Bact .inf.3 µ	Bact.inf. 1 µ	Ass.totale	Ass.tot.inf.3 µ	Ass.tot.inf.1 µ
4,3e+6	3e+6	1,55e+6	3813	1536	2418
2,8e+6	2,3e+6	6,8e+5	2868	307	0
9,7e+6	5,9e+5	6,5e+5	1905	2083	0
1,17e+6	9e+5	1e+6	595	430	680
3,05e+5	2e+5	2,2e+5	2208	430	758

M.m.totales	M.m. inf.3 µ	M.m.inf.1 µ	DNA total	DNA inf.3 µ	DNA inf.1 µ
1082	688	0	1084	778	0
1785	0	0	1705	0	0
1400	1568	0	1562	1667	0
600	389	538	549	432	636
604	216	0	812	265	0

Tableau annexe . Données numériques relatives aux échantillons analysés en baie de Morlaix.

Références citées

- AMOUROUX, J.M. 1982. Ethologie, filtration, nutrition, bilan énergétique de *Venus verrucosa* Linné (Bivalves). Thèse Univ. Paris VI, 99 pp.
- AMOUROUX, J.M., A. GREMARE et J.AMOUROUX. 1989. Modelling of consumption and assimilation in *Abra alba* (Mollusca, Bivalvia). Mar. Ecol. Prog. Ser. 51, 87-97
- BELL, R.T. et I. AHLGREN. 1987. Thymidine incorporation and microbial respiration in the surface sediment of a hypereutrophic lake. Limnol. Oceanogr., 32, 2, 476-82.
- BRITTAIN, A.M. et D.M. KARL. 1990. Catabolism of tritiated thymidine by aquatic microbial communities and incorporation of tritium into RNA and protein. Appl. Environ. Microb., 56, 5, 1245-54.
- CHIN-LEO, G. et D.L. KIRCHMAN. 1988. Estimating bacterial production in marine waters from the simultaneous incorporation of thymidine and leucine. Appl. Environ. Microb., 54, 8, 1934-9.
- CRAVEN D.B. et D.M. KARL. 1984. Microbial RNA and DNA synthesis in marine sediments. Mar. Biol. 83, 129-139
- FINDLAY, S.E.G., J.L. MEYER et R.T. EDWARDS. 1984. Measuring bacterial production via rate of incorporation of (3H) thymidine into DNA. J. Microb. Methods, 2, 57-72.
- FUHRMAN, J.A. et F. AZAM. 1980. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica and California. Appl. Environ. Microbiol., 39, 1085-95.
- GREMARE, A., J.M. AMOUROUX et J. AMOUROUX. 1989. Modelling of consumption and assimilation in the deposit-feeding polychaete *Eupolymnia nebulosa*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 54, 239-248.
- HAYSLETT, H.T. 1981. Statistics Made Simple. Made Simple Books Heineman. London. 243 pp.
- KEMP, P.F. 1987. Potential impact on bacteria of grazing by a macrofaunal deposit-feeder, and the fate of bacterial production. Mar. Ecol. Prog. Ser., 36, 151-161.

KIRCHMAN, D.L., S.Y. NEWELL et R.E. HODSON. 1986. Incorporation versus biosynthesis of leucine: implications for measuring rates of protein synthesis and biomass production by bacteria in marine systems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 32, 47-59.

LOPEZ, G.R. et J.S. LEVINTON. 1987. Ecology of deposit-feeding animals in marine sediments. *Q. Rev. Biol.*, 62, 235.

LORENZ, M.G., B.W. AARDEMA et W.E. KRUMBEIN. 1981. Interaction of marine sediment with DNA and DNA availability to nucleases. *Mar. Biol.*, 64, 225-230.

LORENZ, M.G. et W. WACKERNAGEL. 1987. Adsorption of DNA to sand and variable degradation rates of adsorbed DNA. *Appl. Environ. Microb.*, 53, 12, 2948-52.

MORIARTY, D.J.W. 1986. Measurement of microbial growth rates in aquatic systems using rates of nucleic acid synthesis. *Adv. Microb. Ecol.*, 9, 245.

MORIARTY, D.J.W. et P.C. POLLARD . 1981. DNA synthesis as a measure of bacterial productivity in seagrass sediments. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 5, 151-6.

NEWELL, S.Y., R.D. FALLON et P.S. TABOR. 1986. Direct microscopy of natural assemblages, in *Bacteria in nature*, vol. 2, Poindexter, J.S. et E.R. LEDBETTER, Eds., Plenum Press, N.Y., 1.

POLLARD, P.C. 1987. Dialysis: a simple method of separating labelled bacterial DNA and tritiated thymidine from aquatic sediments. *J. Microb. Methods*, 7, 91-101.

ROBARTS, R.D., R.J. WICKS et L.M. SEPHTON. 1986. Spatial and temporal variations in bacterial macromolecular labeling with (methyl-3H)thymidine in a hypertrophic lake. *Appl. Environ. Microb.*, 52, 6, 1368-73.

ROSZAK, D.B. et R.R. COLWELL. 1987. Metabolic activity of bacterial cells enumerated by direct viable count. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 12, 2889-83.

RUBLEE, P.A. 1982. Bacteria and microbial distribution in estuarine sediments, in *Estuarine Comparisons*, KENNEDY, V.S., Ed., Academic Press, N.Y.

SERVAIS, P., J. MARTINEZ, G. BILLEN et J. VIVES-REGO. 1987. Determining 3H thymidine incorporation into bacterioplankton DNA: improvement of the method by DNase treatment. *Appl. Environ. Microb.*, 53, 8, 1977-9.

THORN,P.M. et R.M. VENTULLO . 1988 . Measurement of bacterial growth rates in subsurface sediments using the incorporation of tritiated thymidine into DNA. *Microb.Ecol.*,16,3-16.

WICKS,R.J. et R.D. ROBARTS.1987 . The extraction and purification of DNA labelled with (methyl-3H)thymidine in aquatic bacterial production studies.*J.Plank.Res.*,9,1159-66.

WINTER, J.E. 1969. Über den Einfluss der Nahrungskonzentration und anderer Faktoren auf Filtrierleistung und Nahrungsausnutzung der Muscheln *Arctica islandica* und *Modiolus modiolus*. *Mar Biol.*,4, 87- 135