

**Centre national de la recherche scientifique
Ecologie et biochimie microbiennes du milieu marin
ER 223**

Etude bactériologique des sédiments abyssaux
Contrat CNEXO et avenant n° 1 n° 80/2249

**Etude de la dynamique des communautés
microbienne et de leurs activités hétérotrophes dans
les parcs conchylicoles**

A. Bianchi

Décembre 1981

Université de Provence. 3, place Victor Hugo – 13331 Marseille

18088

5200
E 2

CONTRAT CNEXO N° 80/22 49
Participants

1) ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES SEDIMENTS ABYSSAUX

Responsable Scientifique : A. BIANCHI MICROBIOLOGIE MARINE. CNRS.
MARSEILLE.

C. RALIJAONA. Microbiologie Marine. C.N.R.S. MARSEILLE

E. VIANNA DORIA. Microbiologie Marine. C.N.R.S. MARSEILLE

G. CAHET. Laboratoire Arago. Banyuls sur Mer.

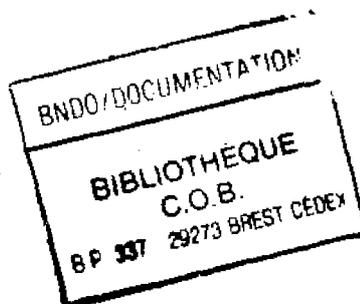
2) DYNAMIQUE DES COMMUNAUTES MICROBIENNES DANS LES PARCS CONCHYLICOLES

- Responsable Scientifique : M. BIANCHI MICROBIOLOGIE MARINE. CNRS
MARSEILLE

- F. WAMBEKE Microbiologie Marine C.N.R.S. MARSEILLE

- R.M. CHIRI Microbiologie Marine C.N.R.S. MARSEILLE

- G. CAHET. Laboratoire Arago. Banyuls sur Mer



ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES SEDIMENTS ABYSSAUX

RESUME

Au cours de la mission DEMERABY du n/o Jean CHARCOT en atlantique occidentale, une étude de la microflore des tractus digestifs d'Echinodermes (Holothurides de différents genres, Astérides, Echinides) a été comparée à celle du sédiment environnant.

La concentration bactérienne observée dans les tractus digestifs de tous les animaux étudiés est supérieure à celle des sédiments environnants. Les effectifs les plus importants sont toujours observés dans la partie la plus antérieure des tractus digestifs des holothuries. Dans certains cas, l'accroissement est considérable (7.10^8 contre $5,2. 10^3$ cellules/ml) : il indique une prolifération des cellules bactériennes dans la partie antérieure du tractus digestif. Au cours de la progression du sédiment dans le tractus digestif, la charge bactérienne décroît progressivement. Dans la partie la plus postérieure, la concentration est cependant toujours nettement supérieure à celle du sédiment environnant.

Dans le cas d'une holothurie du genre *Deima*, l'analyse selon le principe adansonien de comparaison montre que la microflore isolée des différentes parties du tractus digestif est constituée de groupes taxonomiques présentant peu de ressemblance avec ceux isolés du sédiment. Dans le cas d'une holothurie du genre *Pseudostichopus* il n'apparaît pas de spécialisation de la microflore du contenu du tractus digestif par rapport à celle du sédiment ingéré.

L'étude des activités métaboliques suggère une juxtaposition de deux types de communautés : sédiment libre-sédiment en transit qui se complètent dans leur comportement enzymatique et nutritionnel. En effet les souches du sédiment libre semblent être plutôt aptes à hydrolyser et à utiliser les glucides, tandis que celles des communautés entériques portent leur préférence sur l'hydrolyse des lipides et protéines et l'assimilation des acides gras, acides dicarboxyliques, hydroxy-acides et certains acides aminés. D'autre part les microflores entériques possèdent une versatilité nutritionnelle plus importante qui, liée à leurs effectifs, offre une potentialité catabolique non négligeable.

Les mesures d'activité hétérotrophe effectuées au moyen de traceurs glucose ^{14}C permettent de montrer que les activités métaboliques des communautés bactériennes des sédiments abyssaux superficiels varient selon les zones. Dans le Cone de l'Amazone on observe un net gradient de minéralisation du glucose sur une distance de quelques kilomètres. Dans la plaine abyssale de Demerara les activités hétérotrophes sont ralenties par rapport à celles des sédiments superficiels du Cone de l'Amazone, bien que les effectifs bactériens et les profondeurs soient du même ordre de grandeur dans ces deux zones.

Les abondantes microflores associées aux différentes fractions du contenu du tractus digestif de l'holothurie abyssale *Deima* ne manifestent que peu d'activités métaboliques vis à vis du glucose. Par contre les communautés bactériennes de *Pseudostichopus* et *Psychropotes* manifestent des activités hétérotrophes très fortes, croissant de l'oesophage vers le cloaque.

Les résultats actuels sont trop fragmentaires pour permettre d'observer une éventuelle spécialisation physiologique des communautés bactériennes entériques permettant de faciliter les processus de digestion chez l'hôte.

Conclusion: dans le milieu abyssal, caractérisé par des communautés bactériennes faiblement développées, les microflores associées aux contenus de tractus digestif des Echinodermes présentent des concentrations cellulaires considérablement plus importantes. Par leurs équipements enzymatiques ces communautés entériques complémentaires de ceux des microflores libres des sédiments superficiels, peuvent participer à la transformation des matières organiques du domaine abyssal.

RESUME

A partir d'expérimentations effectuées sur l'eau du bassin d'Arcachon, des essais de quantification et qualification du potentiel de réactivité des communautés bactériennes ont été effectuées.

Les communautés bactériennes ont été définies par comptage directs, comptages après mise en culture, structure et diversité de ces communautés, dosage des AMP, ADP, ATP.

Deux situations écologiques opposées ont été considérées. Une situation automnale (température élevée) et une situation hivernale (température faible).

Des bacs d'eau de mer de 6 et 60 litres ont été enrichis, soit avec du chlorure d'ammonium, soit avec un mélange d'acides aminés, à environ $500 \mu\text{Atg N.l}^{-1}$. Les expériences ont duré 24 heures, avec des prélèvements toutes les 3 heures.

La communauté automnale réagit rapidement (6 heures), la réponse à l'enrichissement en azote organique étant la plus importante. La structure de la communauté présente des stades immatures instables.

Au contraire, au cours de l'expérimentation hivernale, aucune réponse n'a pu être perçue. Ceci peut signifier que la phase de latence est supérieure à 24 heures. La structure de cette communauté présente des stades matures.

En conclusion, les communautés bactériennes réagissent de la même façon que les communautés macroscopiques. Les communautés stables sont diversifiées et correspondent à des stades matures de l'écosystème, les stades immatures sont instables et moins diversifiés.

Ce type d'expérience a permis de mettre en évidence la rapidité de réponse des populations bactériennes, et peut être utilisé pour définir la stabilité d'une communauté bactérienne dans un biotope précis.

ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES SEDIMENTS ABYSSAUX
(DEMERABY, SEPTEMBRE 1980)

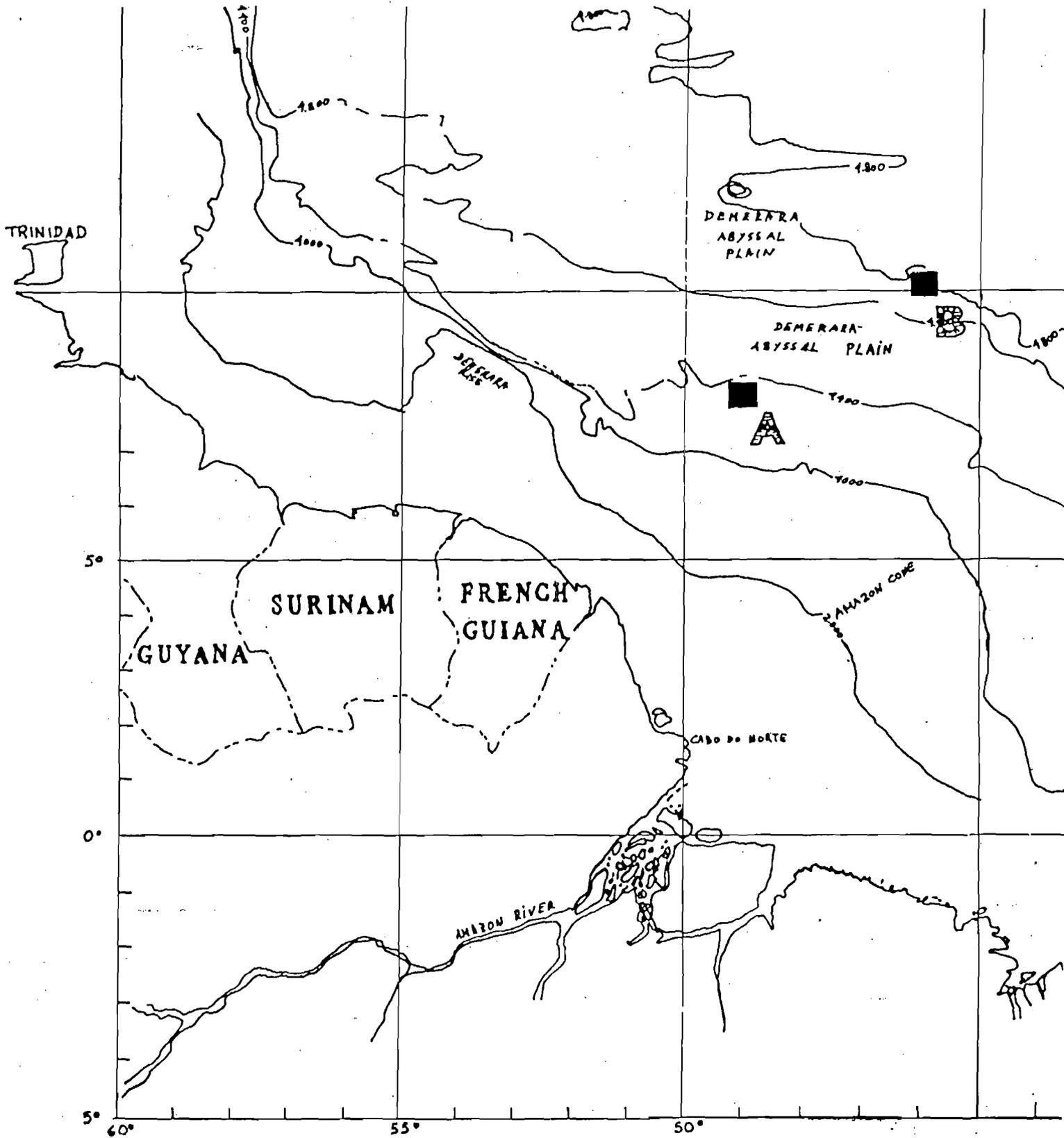
Le but de l'étude est de comparer la distribution, la structure et les activités métaboliques des communautés bactériennes hétérotrophes aérobies strictes ou facultatives des sédiments abyssaux superficiels et des contenus de tractus digestifs de certains Echinodermes isolés de la même zone. L'intérêt de l'étude des Echinodermes, et en particulier des Holothuries, réside dans le fait que ces organismes occupent une place importante dans la biomasse abyssale. De plus par leur mode de nutrition limivore, ces organismes pourraient entretenir au sein de leur tractus digestif une culture renouvelée de micro-organismes contribuant de ce fait dans une large mesure, à la reminéralisation de la matière organique sédimentée. L'activité géochimique de ces populations microbiennes est également appréciable.

MATERIEL ET METHODES

Au cours de la campagne DEMERABY (septembre 1980) du n/c J. CHARCOT en Atlantique occidentale, deux zones (Cône de l'Amazone et Plaine abyssale de Demerara) ont été étudiées. Plusieurs chalutages ont permis de récupérer intacts un certain nombre d'Echinodermes (Holothurides, Echinides, et Astérides) tandis que les sédiments superficiels (0-2 cm) ont été échantillonnés sur des prises de vase, effectuées au moyen de carottier de grande surface type USNEL 0.25 m².

Dès la remontée à bord des engins de prélèvements, les échantillonnages pour bactériologie sont effectués en priorité. Ainsi les échantillons de sédiments et des contenus de tractus digestifs sont traités à bord par suspension-dilution en sérum physiologique stérile. Une incubation à 20°C pendant un mois en duplicata sur le milieu nutritif gélosé 2216 E D'OPPENHEIMER et ZOBELL à 20°C permet une numération des bactéries hétérotrophes aérobies mésophiles barotolérantes.

A partir de ces cultures, des souches bactériennes sont isolées, au hasard, au moyen d'une grille type, purifiées et décrites par 104 caractères phénotypiques (morphologiques, physiologiques et nutritionnels). Cette phase de l'étude concerne deux Holothuries (un *Deima* de la zone A : Cône de l'Amazone ; un *Pseudostichopus* de la zone B: Plaine Abyssale de Demerara),



Localisation des 2 zones :- A: Cône de l'Amazone

- B: Plaine abyssalé de Demerara

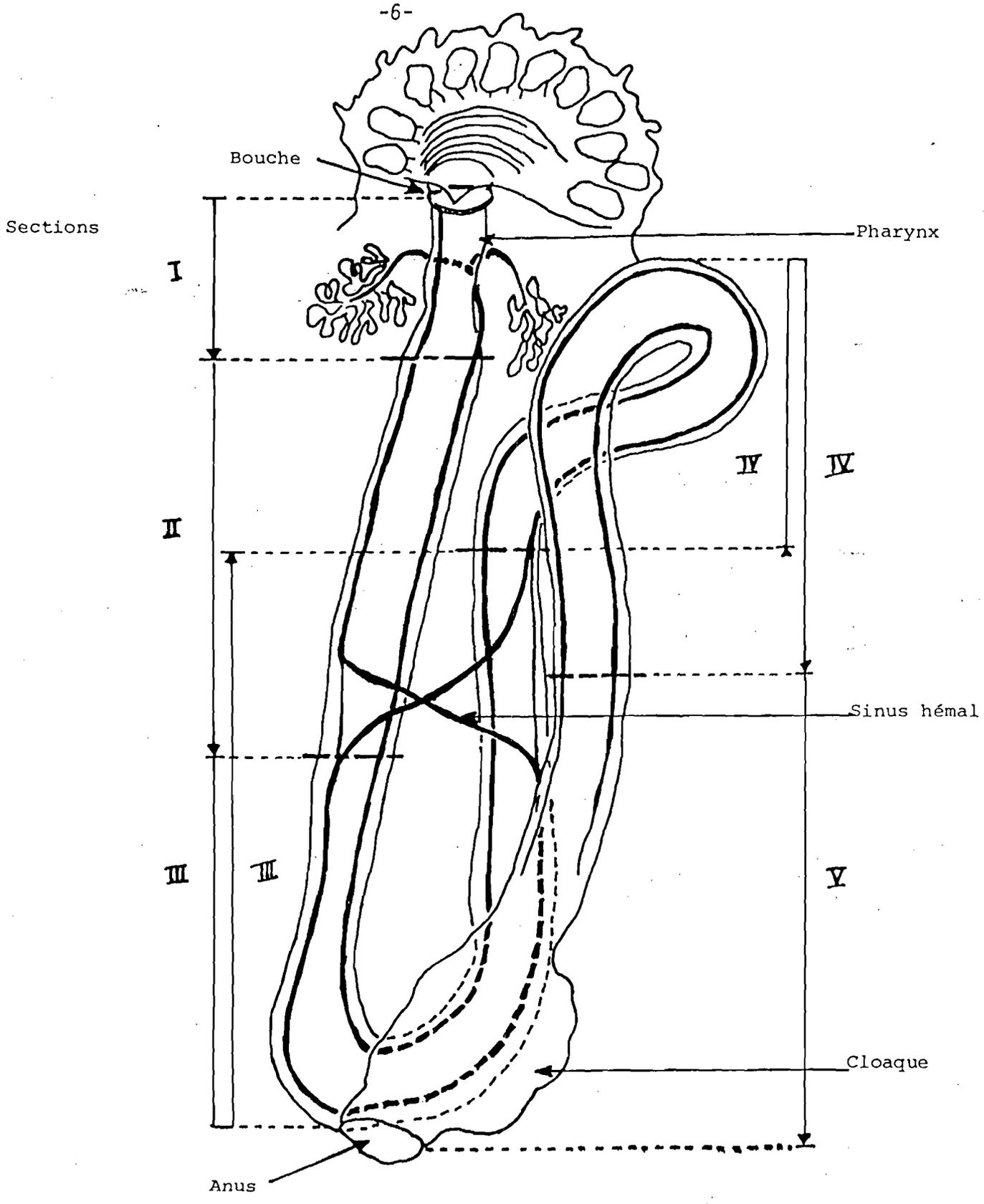


Schéma représentant les cinq niveaux de Tube Digestif échantillonnés chez les Holothuries. (Khripounoff, 1979.)

fractionnées en 5 sections (I à V), avec pour chaque animal un sédiment superficiel libre de référence.

Ces caractères phénotypiques permettent d'établir la structure et les potentialités cataboliques des différentes communautés bactériennes étudiées, en vue d'estimer l'éventuelle spécificité taxonomique et physiologique de ces microflores entériques, par comparaison des souches au moyen d'un programme de classification automatique selon le principe adansonien, en utilisant la variance comme critère d'agrégation.

D'autre part, des mesures d'activité par addition de traceurs ^{14}C (assimilation et respiration du glucose pour les sédiments libres, et d'un mélange d'acides aminés pour les suspensions du contenu du tractus digestif, incubés à 4°C et 1 atm.) sont effectuées. Pour les contenus entériques, les incubations sont faites à partir d'une suspension du contenu (dilution 10^{-2}), tandis que pour les sédiments le substrat marqué est injecté directement dans le sédiment contenu dans une seringue de 2 ml en matière plastique tronquée. Le temps d'incubation terminé, la réaction est arrêtée par congélation.

RESULTATS

1- Numération

1.1- Sédiments libres environnants :

Les résultats des comptages indirects sont résumés dans le tableau n° 1 en nombre de bactéries par millilitre de sédiment.

On observe la présence d'une population bactérienne variant de 10^2 à 10^3 /ml pour l'ensemble des sédiments des deux zones étudiées, avec cependant deux exceptions pour les carottes 18 et 19 de la zone B : où l'on note une forte concentration de 10^6 bactéries par ml.

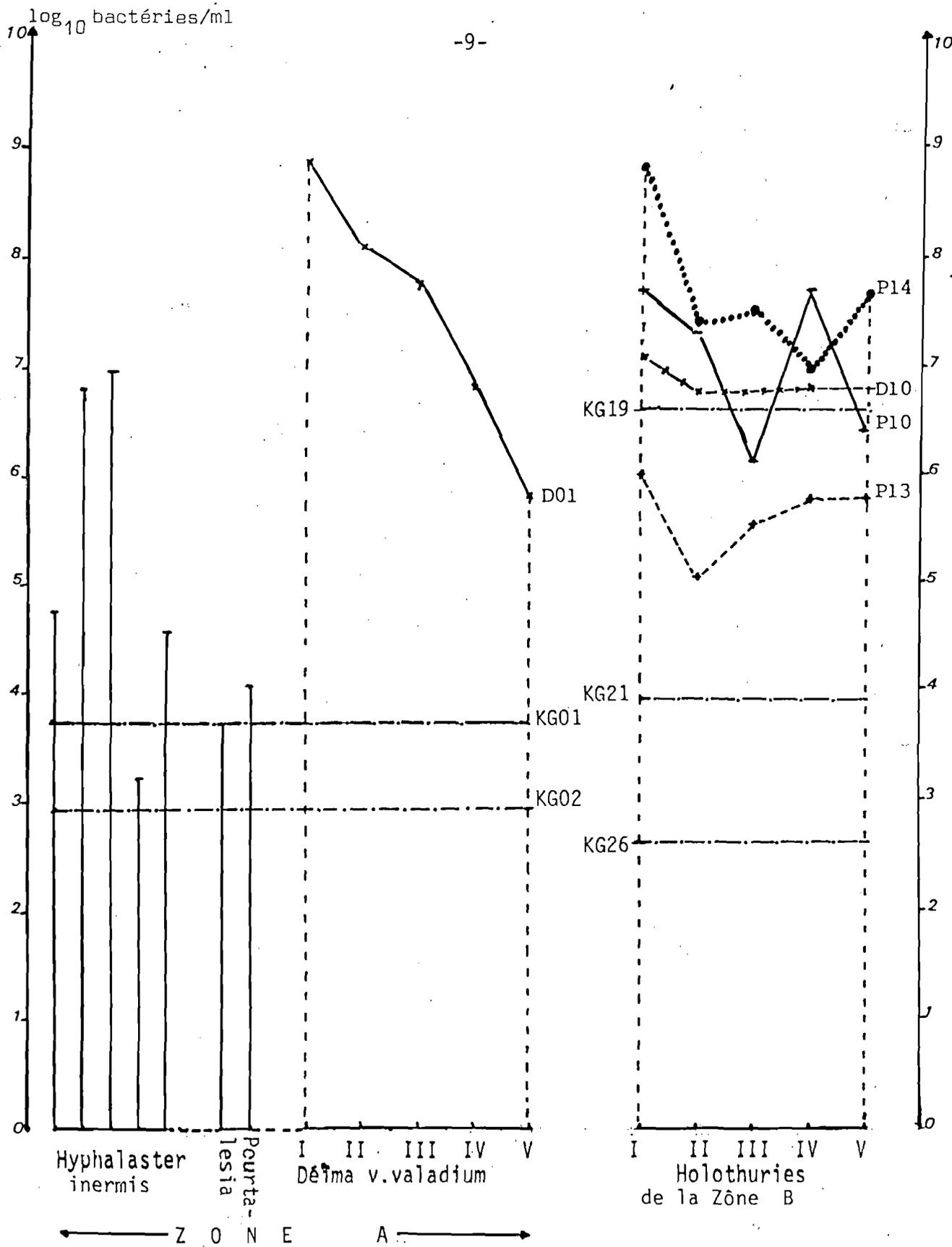
Les effectifs sont donc en général faibles dans ces sédiments superficiels. Et la distribution de ces populations aux différentes stations est relativement homogène en se situant dans une marge assez réduite ($4 \cdot 10^2$ à $8 \cdot 10^3$) ne permettant pas de différencier les deux zones étudiées sur la base du nombre de bactéries hétérotrophes viables.

1.2- Tractus digestif :

La microflore des contenus de tractus digestifs d'Echinodermes abyssaux (Holothurides, Echinides et Astérides) est nettement plus importante par rapport à celle des sédiments libres (tableau n° 1 et Figure n°1). Son évaluation varie selon les animaux et selon les différentes parties du tractus

Tableau n°1: Résultats de la numération indirecte (Marine Agar Difco), en nombre de bactéries par millilitre de sédiment.

STATIONS (Zone A)	PROFONDEUR (m)	Nb de bactéries /ml de sédiment	STATIONS (Zone B)	PROFONDEUR (m)	Nb de bact./ml
KG 01	4470	5.25 10 ³	KG 18	4850	1.03 10 ⁶
KG 02	4427	8.33 10 ²	KG 19	4850	4.06 10 ⁶
KG 04	4436	3.33 10 ³	KG 21	4850	8.33 10 ³
KG 06	4430	2.08 10 ³	KG 22	4850	2.91 10 ³
KG 08	4434	3.5 10 ³	KG 26	4850	4.16 10 ²
KG 09	4440	2 10 ³	KG 27	4830	4.16 10 ²
KG 10	4440	4.5 10 ³	KG 28	4850	4.16 10 ²
			KG 29	4850	8.33 10 ³
CP 01:	4438		CP 10	4850	
<i>Déima v. valadium</i> I		7 10 ⁸	<i>Pseudost. villosus</i> I		4.7 10 ⁷
" II		1.2 10 ⁸	" II		2.1 10 ⁷
" III		5.4 10 ⁷	" III		1.3 10 ⁶
" IV		6.3 10 ⁶	" IV		5 10 ⁷
" V		6.1 10 ⁵	" V		2.5 10 ⁶
<i>Hyphalaster inermis</i>		8.6 10 ⁴	<i>Déima v. valadium</i> I		1.2 10 ⁷
<i>Pourtalesia</i>		4.6 10 ³	" II		5.8 10 ⁶
CP 02	4420		" IV		6.4 10 ⁶
<i>Hyphalaster inermis</i>		8.6 10 ⁴	CP 13	4850	
"		9.1 10 ⁶	<i>Pseudost. villosus</i> I		1 10 ⁶
CP 03	4430		" II		1.2 10 ⁵
<i>H. inermis</i>		1.6 10 ³	" III		3.5 10 ⁵
CP 05	4434		" IV		5.8 10 ⁵
<i>Pourtalesia</i>		1.1 10 ⁴	" V		6.1 10 ⁵
<i>H. inermis</i>		6.1 10 ⁴	CP 14	4830	
			<i>Pseudost. villosus</i> I		6.3 10 ⁸
			" II		2.4 10 ⁷
			" III		3.2 10 ⁷
			" IV		9.4 10 ⁶
			" V		4.4 10 ⁷



Distribution des peuplements bactériens dans les contenus de tractus digestifs d'Echinodermes, fractionnés en cinq sections (IàV) et dans les sédiments superficiels environnants (KG) du Cone de l'Amazone (zone A) et de la plaine abyssale de Demerara (zone B).

digestif (chez les holothuries).

12.1- Chez *Deima*, la concentration la plus élevée s'observe au niveau de la partie la plus antérieure (I). Et au cours du transit digestif, on note une décroissance progressive du nombre de bactéries jusqu'à la partie la plus postérieure, où cependant la valeur observée reste supérieure à celle du sédiment environnant.

12.1- Chez *Pseudostichopus* également, on note la plus forte concentration au niveau du pharynx (I), et dans les parties suivantes cette valeur subit des fluctuations.

12.3- Quant aux autres Echinodermes : *Pourtalesia* Echinides, et *Hyphalaster inermis* (Astérides), la numération indirecte révèle une population relativement inférieure à celle des holothuries d'autant que les valeurs pour l'oursin voisinent celles rencontrées dans les sédiments libres ,

On note donc chez les Holothuries une décroissance de la population bactérienne hétérotrophe aérobie en fonction du transit, du pharynx vers le cloaque, après une prolifération au niveau de la section I.

2- Structure des communautés bactériennes.

2.1- Sédiments environnants

21.1- La structure de la population observée au niveau du cône de l'Amazone (kg 01) est assez variée. En considérant les grands groupes définis par Bianchi *et al.* (1977), on observe une majorité de bâtonnets à coloration de Gram positif (55%) dont une dominance de sporulés (46%) alors que les Corynéformes ne représentent que 9% de la population. Les autres groupes, Cocci (9%), Vibrioïdes (9%) et Pseudomonades (18%) sont faiblement représentés.

21.2- Quant à la zone B (Plaine Abyssale de Demerara : KG 19) on remarque une présence presque exclusive de Pseudomonades (95%), et de Vibrioïdes.

L'étude de la structure des communautés des sédiments libres montre donc la différence non observée au niveau quantitatif, entre les deux zones d'étude A et B. Cette différence s'observe également au niveau du comportement des communautés bactériennes à 4°C et à 100‰ de NaCl. En effet seulement 18% des souches de la communauté de KG 01 prolifèrent à 4°C, alors que 75% de celles de KG 19 en sont capables. Tandis que 57% de KG 01 supportent une salinité à 100‰ pour 35% de KG 19. Cependant un point commun aux deux communautés est malgré l'absence presque totale (9% et 5%) de bactéries de

type fermentatif, la bonne représentativité des anaérobies facultatives respirant le NO_3^- (46% et 55%). D'autre part, ces deux communautés réduisent bien le NO_3^- en NO_2^- (85% et 60%).

2.2- Les contenus du tractus digestif

22.1- Au sein des différentes parties du tractus digestif de *Deima*, le groupe des Pseudomonades domine sur les autres formes bactériennes.

En effet, dès le pharynx (I) ils forment 75% de la population, cependant que les Vibrioïdes (17%) et les Corynéformes (8%) sont représentés.

Au niveau de la seconde section, la structure de la population ressemble à la précédente avec une légère augmentation des Pseudomonades au dépens des Vibrioïdes.

La communauté est légèrement modifiée au niveau de la troisième section (III) où les Pseudomonades ne représentent plus que 50%, tandis que les Vibrioïdes (30%) et les Corynéformes (20%) montrent une présence plus significative.

Dans la partie suivante les Vibrioïdes sont toujours présents (23%), alors que les Corynéformes disparaissent totalement au bénéfice des Pseudomonades (77%).

Et au niveau du cloaque les Vibrioïdes disparaissent à leur tour, tandis que les cocci (8%) et les batonnets sporulés (*Bacillus*) (8%) font leur apparition.

Le comportement de ces souches vis à vis de la température reste relativement homogène au cours du transit : à 4°C une proportion plus grande de souches peut se développer par rapport au sédiment libre. Par contre les communautés de *Deima* sont moins actives à 100‰ de NaCl.

Comme chez les communautés libres des sédiments les anaérobies facultatives sont plus représentées par les souches respirant le NO_3^- que par les fermentatives, sauf en la section I.

22.2- Comme précédemment, chez *Pseudostichopus*, le groupe des Pseudomonades domine : ils représentent 86% de la communauté au niveau de l'oesophage (I). Les fermentatifs (14%) sont présents.

Dans la partie suivante, un nouveau groupe apparaît : les Corynéformes (6%) au dépens des Pseudomonades (82%). Une nouvelle apparition se manifeste en III, avec 26% de sporulés et une présence plus significative des Corynéformes (32%) au dépens des Vibrioïdes (5%) et des Pseudomonades (37%).

Caractères	K1	D E I M A					K19	PSEUDOSTICHOPUS				
		I	II	III	IV	V		I	II	III	IV	V
Coques	09	00	00	00	00	08	00	00	00	00	00	33
Coccobacilles	00	17	25	50	11	08	00	14	38	05	00	17
Batonnets	91	83	75	50	89	84	100	86	62	95	100	50
Sporulés	46	00	00	00	00	08	00	00	00	26	06	17
Mobilité	28	75	25	40	56	84	85	64	44	16	92	00
Gram +	57	00	00	00	00	00	00	00	06	26	00	17
Gram -	28	92	92	80	100	92	100	100	94	63	100	83
Gram variable	09	08	08	20	00	08	00	00	00	16	00	00
Oxydase	09	33	17	00	44	39	05	64	38	05	00	17
Catalase	100	100	100	90	100	100	100	100	88	100	86	50
Ox. Glucose	18	42	50	70	44	31	25	57	62	05	49	17
Ferm. Glucose	09	17	08	30	23	00	05	14	12	21	06	00
Uréase	00	08	00	00	00	00	05	29	25	00	00	00
Phosphatase	00	25	25	20	00	08	25	50	32	21	74	33
Esculinase	36	00	00	10	00	31	00	00	06	74	00	33
Tween 80	57	92	66	90	100	92	85	71	100	26	68	17
Lecithinase	46	75	42	40	89	84	90	71	100	05	86	17
Amylase	57	25	17	30	33	23	55	29	25	11	06	17
Gélatinase	66	08	33	20	23	16	00	14	50	85	25	17
DNAase	66	00	17	20	00	08	00	00	00	90	06	33
Agarolytiques	00	00	00	00	00	00	00	00	00	05	00	00
Chitinolytiques	09	00	00	00	00	00	00	00	00	05	06	17
04°C	18	25	33	30	33	23	75	64	19	53	31	17
37°C	100	100	92	100	100	100	100	100	100	95	92	83
44°C	91	100	75	90	89	100	80	100	100	38	80	33
0‰ NaCl	91	83	92	100	78	92	100	86	88	100	100	100
100‰ NaCl	57	33	17	00	23	16	35	57	38	05	25	30
Réduction NO3	85	66	75	50	89	70	60	50	38	47	43	17
Réduction NO2	00	25	08	20	23	08	55	21	19	11	25	00
Respiration NO3	46	00	42	50	56	77	55	50	32	00	19	00

Tableau 2. Pourcentages de réponses positives des souches isolées des cinq fractions du tractus digestif de *Deima validum validum* et de *Pseudostichopus villosus* (I à V), ainsi que des sédiments superficiels environnants (K01 Cône de l'Amazonie ; K19 Plaine abyssale de Demerara).

Comme précédemment le passage entre III et IV montre deux structures de communauté différentes indiquant une discontinuité, avec une nette supériorité des Pseudomonades (88%), la réduction des Sporulés et des Vibrioïdes (6% chacun) ainsi que la disparition des Corynéformes.

Quant au cloaque, il abrite une communauté toujours à majorité de Pseudomonades (66%), mais avec une réapparition des Corynéformes (17%) et une disparition des Vibrioïdes.

Comme précédemment les anaérobies facultatives sont essentiellement représentées par les souches respirant le NO_3^- . La réduction du NO_3^- en NO_2^- est très active dans les différentes parties du tractus digestif des deux animaux (surtout chez *Deima*). Cependant la réduction au delà du NO_2^- est moins fréquente ou presque nulle dans le cloaque.

3- Potentialités cataboliques

Les fréquences d'utilisation des composés organiques sont représentées dans les figures 2,3,4,5, où sont portés en abscisse les différents substrats ou familles de substrats et en ordonnée les pourcentages d'utilisation au sein de chaque microflore. Il en est de même pour la production d'exo-enzyme et du métabolisme respiratoire.

3.1- Sédiments libres :

31.1- Cône de l'Amazone (KG 01) : Les souches du sédiment libre de cette zone présentent une activité exo-enzymatique relativement variée. En effet, plus de la moitié de la communauté possède la tween-esterase (57%), l'amylase (57%), la gélatinase (66%), la DNase (66%). Cependant que la lécithinase (46%) et l'esculinase (36%) sont produits à un degré moindre.

Vis à vis des composés carbonés fournis comme source unique de carbone et d'énergie, cette communauté ne semble pas très active, excepté pour l'utilisation du glucose (91%), de la proline (55%) et du glutamate (55%). Les 35 autres composés testés sont utilisés par moins de la moitié de la communauté. D'ailleurs les IMU (indice moyen d'utilisation) montrent un coefficient d'utilisation faible, le maximum étant l'IMU des acides aminés aromatiques (41%).

31.2- Les souches isolées du sédiment libre de la Plaine Abyssale de Demerara par contre montrent un équipement exo-enzymatique moins varié : tween-esterase (85%), lécithinase (90%) amylase (55%) et phosphatase (25%). Mais cette communauté possède une activité nutritionnelle très importante. En effet les IMU sont très élevés, avec une certaine préférence pour les acides gras (99%), les acides organiques (90%)

COMPOSES	D E I M A						PSEUDOSTICHOPUS					
	KG01	I	II	III	IV	V	KG19	I	II	III	IV	V
Arabinose	09	25	17	10	00	15	15	21	06	74	25	14
Ribose	27	17	17	20	00	31	15	14	13	32	18	17
Glucose	91	50	42	40	45	62	100	64	38	95	96	100
Lactose	18	25	25	10	11	15	00	00	00	63	00	33
Saccharose	36	17	25	10	00	23	10	21	19	89	12	66
Amidon	18	42	33	20	22	46	50	14	19	16	25	33
Gluconate	18	33	33	30	33	23	85	64	38	58	84	33
N.Ac. Glucosamine	18	25	17	20	00	23	00	07	06	79	12	33
Acetate	36	58	83	80	100	69	95	79	88	79	72	83
Propionate	18	50	75	60	89	69	100	86	63	21	96	33
Butyrate	09	83	83	90	89	93	100	100	100	26	100	50
Caproate	00	58	92	60	89	46	100	93	100	16	96	17
Malonate	09	25	25	20	22	08	85	72	81	00	84	00
Succinate	36	100	83	90	100	85	90	93	88	42	90	33
Fumarate	46	92	92	90	100	93	90	93	81	42	90	50
Adipate	09	08	25	10	11	00	00	14	00	00	00	00
Lactate	27	92	92	90	100	85	100	86	69	26	100	50
Glycollate	09	08	33	30	33	08	70	43	31	47	72	17
Citrate	27	50	42	40	67	85	95	86	100	26	90	50
α-aceto-Glutarate	27	33	25	20	22	15	85	72	38	05	84	17
Glycérol	46	33	25	20	22	31	85	64	38	79	42	17
Mannitol	27	33	42	30	22	46	45	43	25	79	54	00
Sorbitol	18	08	08	20	00	08	10	21	13	21	12	00
Mandélate	00	25	00	20	00	00	00	00	00	00	00	00
Benzoate	00	42	33	70	11	62	70	50	56	05	25	00
Proline	55	67	50	60	78	100	100	100	100	21	100	17
Tryptophane	27	33	00	00	00	08	00	00	00	16	00	33
Glycine	09	08	00	20	00	15	65	29	38	11	60	17
Alanine	27	75	67	70	89	85	100	79	88	11	90	33
Serine	36	25	08	20	11	39	35	57	19	26	72	50
Aspartate	36	50	58	60	67	85	80	64	38	32	84	33
Glutamate	55	75	67	60	89	85	100	100	38	32	96	33
Lysine	09	08	17	20	00	23	30	50	13	05	30	00
Arginine	00	33	17	30	45	78	35	79	63	16	54	17
Ornithine	09	08	08	10	22	31	20	29	13	26	12	17
Asparagine	27	58	50	40	67	78	100	72	13	26	100	33
Méthionine	09	00	00	00	11	08	00	00	00	00	00	00
Sarcosine	09	00	00	10	00	15	30	36	25	26	72	17

Tableau 3. Indices moyens d'utilisation des différents composés organiques (IMU) par les différentes communautés bactériennes étudiées.

KG01: Sédiments superficiels du cône de l'Amazone.

KG19: Sédiments superficiels de la plaine abyssale de Demerara.

I à V: les différentes fractions du tractus digestif des holothuries étudiées.

COMPOSES	ZONES	K	I	II	III	IV	V
SUCRES	A	30	30	26	20	14	30
	B	34	26	17	63	34	42
Acides gras	A	16	62	83	73	92	69
	B	99	90	88	36	91	46
Acides décarboxy- liques	A	25	56	56	53	58	47
	B	66	68	63	21	66	21
Hydroxy-Acides	A	18	50	63	60	67	47
	B	85	65	50	37	86	34
Acides organiques	A	27	42	34	30	45	50
	B	90	79	69	16	87	34
Alcools	A	30	25	25	23	15	28
	B	37	43	25	60	36	06
Acides aminés Aliphatiques	A	22	34	29	33	40	53
	B	57	56	32	19	60	23

Tableau 4. Indices moyens d'utilisation des principales familles de composés organiques par les différentes communautés bactériennes étudiées.

A: Cône de l'Amazone ; B : Plaine abyssale de Demerara.

K: Sédiments superficiels (0-2 cm)

I,II,III,IV,V: les différentes fractions du tractus digestif des holothuries étudiées.

les hydroxy-acides (85%), les acides dicarboxyliques (66%). Cependant chez les autres familles chimiques certains substrats sont très bien assimilés, puisque 18 composés sur 38 le sont par plus de 75 % de la population.

Les communautés des sédiments libres sont caractérisées par certains traits communs, sur le plan nutritionnel :

- parmi les sucres, on note la bonne utilisation du glucose
- certains substrats sont peu ou pas du tout utilisés : adipate, mandélate et méthionine.

3.2- Contenu du tractus digestif

3.2.1 Chez *Deima* : les communautés bactériennes des différentes parties du tractus digestif présentent un bon indice de production pour la tween-esterase et la lécithinase, alors que les autres exo-enzymes ne sont que faiblement produites.

a- En effet, dès la section I, on note 92% pour la tween-esterase et 75% pour la lécithinase, s'y ajoutant la phosphatase et l'amylase à 25% chacune, alors que l'uréase et la gélatinase montrent un taux très faible.

Les potentialités nutritionnelles montrent une préférence pour les acides gras (62%), acides dicarboxyliques (56%) hydroxy-acides (50%) et acides aminés cycliques (50%). Au sein des autres familles chimiques, on peut noter des indices relativement élevés. Ainsi parmi les sucres le glucose (50) et l'amidon (47%) sont les plus fréquemment assimilés ; parmi les acides organiques c'est le citrate (50%), et parmi les acides aminés aliphatiques : l'alanine (75%) et le glutamate (75%).

b- Au sein de la section II, l'équipement exo-enzymatique se complète par rapport à celui de la section I avec le renforcement de la gélatine (33%) et l'apparition de la DNase (17%), tandis que la faible valeur de l'uréase n'est plus produite. Cette production d'exo-enzymes est plus diversifiée mais présente des taux moins élevés par rapport à ceux observés en I.

Le comportement nutritionnel est pratiquement identique à celui de I mais avec des taux d'utilisation moins importants sauf pour les acides gras (83%). En outre, comme dans l'oesophage 10 substrats sur 38 testés sont utilisés par plus de la moitié de la communauté, cependant que 6 (au lieu de 4 pour I) sont assimilés par plus de 75% des souches. Par contre le nombre de substrats utilisés par moins de 25% de la communauté augmente (19 contre 16 pour la section, I). Comme précédemment le glucose est le glucide le plus fréquemment utilisé (42%).

c- Les souches de la troisième partie du tractus digestif montrent une production d'exo-enzymes presque identique à celles des deux autres sections et à des taux aussi élevés qu'en II sauf pour la tween-esterase. De même le comportement nutritionnel ne subit pas beaucoup de variation : acides gras (73%), acides dicarboxyliques (53%), hydroxy-acides (60%). Cependant que 12 substrats sont assimilés par plus de la moitié de la communauté, ainsi parmi les composés cycliques non azotés, le benzoate est très fréquemment utilisé (70%) parmi les acides aminés aromatiques : la proline (60%), et parmi les acides aminés aliphatiques : l'alanine (70%), l'aspartate (60%), et la glutamate (60%). La versatilité nutritionnelle augmente donc au cours du transit de la section I à la section III.

d- Dans la section IV, l'équipement exo-enzymatique varie un peu (tween-esterase : 100%, lécithinase : 89%, amylase : 33%, et gélatinase : 23%) avec la disparition de la phosphatase, de l'esculinase et du DNase par rapport à la production observée en III. Mais la versatilité nutritionnelle ne cesse d'augmenter, car sur les 13 substrats utilisés par au moins la moitié de la population 10 le sont par plus de 75%. Les familles les plus utilisées sont toujours les acides gras (92%), les acides dicarboxyliques (58%) et les hydroxy-acides (58), tandis qu'au sein des autres familles chimiques, la préférence des souches vont vers les mêmes substrats (glucose, citrate, proline, alanine, aspartate, glutamate, et asparagine).

e- La capacité nutritionnelle augmente encore au sein de la partie la plus postérieure (V) du tractus digestif, puisque sur les 15 substrats utilisés par plus de 50% de la population, 11 le sont par plus de 75% des souches. Mais dans cette dernière partie, les préférences nutritionnelles subissent une légère modification : acides gras (69%), acides organiques (50%), acides aminés aromatiques (54), et aliphatiques (53). On observe donc chez Deima, une capacité nutritionnelle croissante des communautés bactériennes au cours du transit de l'oesophage vers le cloaque, malgré un équipement exo-enzymatique relativement peu varié et faible.

3.2.2. Pseudostichopus

a- La partie la plus antérieure du tractus digestif montre un équipement exo-enzymatique assez varié : uréase (29%), phosphatase (50%), tween-esterase et lécithinase (71%), amylase (29%) et gélatinase (14%).

Le comportement nutritionnel montre des IMU relativement élevés et une versatilité assez importante dans l'utilisation des familles chimiques. En effet 6 familles sur 10 sont dégradées par plus de la moitié de la population (acides gras-dicarboxyliques-organiques, hydroxy-acides, acides aminés aromatiques et aliphatiques). D'autre part, 20 substrats sur les 38 testés sont assimilés par plus de la moitié de la communauté, avec entre autre le glucose (64%) et le gluconate (64%) parmi les sucres les plus fréquemment catabolisés.

b- Au niveau de la section II, la production d'exo-enzymes est aussi variée que précédemment, bien qu'avec les coefficients plus élevés pour tween-esterase, la lécithinase (100%) et la gélatinase (80%). La versatilité nutritionnelle par contre, diminue en importance (5 familles au lieu de 6 et 13 substrats utilisés par moins de 25% de la population augmente (17 contre 11 pour la section I).

c- Les souches de la section III révèlent un caractère exo-enzymatique totalement différent des autres communautés entériques. En effet on observe une production élevée en esculinase (74%), gélatinase (85%), DNase (90%) qui sont faiblement présents chez les autres communautés du tractus digestif. De même les exo-enzymes fortement produits chez les autres le sont faiblement ici (tween-esterase. 26% et lécithinase : 5%). En outre on note 5% d'agarolyse et 5% de chitinolyse.

Cette différence se retrouve au niveau des potentialités nutritionnelles car cette communauté se particularise en utilisant plus fréquemment les hydrates de carbone (63%) et les alcools (60%), délaissant les familles généralement catabolisées par les autres communautés (acides gras, acides dicarboxyliques, hydroxy-acides et acides organiques). Cette différenciation des caractères cataboliques s'accompagne d'autre par d'une réduction de la versatilité nutritionnelle : 9 substrats sont assimilés par au moins la moitié des souches (dont 6 sucres et 2 alcools s'y ajoutant l'acétate, 79% et le glycollate 47%). On retrouve d'ailleurs cette différenciation des souches de la section III lors de l'analyse mathématique . Le dendrogramme tracé montre un regroupement bien distinct de ces souches vis à vis des autres phénomènes.

d- avec la communauté de la 4^o partie on retrouve les caractères enzymatiques et nutritionnels de celles observées en I et II : tween-esterase (68%) et lécithinase (86%) réapparaissent en bonne proportion, cependant que cette communauté se caractérise par une fréquente production de phosphatase (74%) et maintient la chitinolyse (6%).

La versatilité nutritionnelle de cette communauté est la plus élevée du tractus digestif avec 23 composés sur 38 et 8 familles sur 10 assimilés par plus de la moitié des souches. En outre les valeurs des IMU observées sont très élevées (acides gras : 91%; acides dicarboxyliques : 66%, hydroxy-acides : 86%; acides organiques ; 87%, acides aminés aromatiques : 50% et aliphatiques 60%. Autres particularités de cette population : les fréquentes utilisations du glucose (96%) du gluconate (84%) parmi les sucres et du mannitol (54%) parmi les alcools (alors que chez les autres communautés c'est le glycérol qui est préféré).

e- Le cloaque (V) montre un équipement exo-enzymatique très diversifié (avec 17% de chitinolyse) bien qu'à des taux assez faibles. La capacité nutritionnelle ne suit pas cette diversité, car seuls 3 composés organiques

sont assimilés par plus de la moitié des souches. La valeur des IMU par famille chimique reste inférieure à 50%, les plus élevés étant ceux des acides gras (46%) et des sucres (42%).

On constate donc à ce niveau une forte diminution des capacités cataboliques.

4. Structure des communautés bactériennes.

Dans les sédiments superficiels (0-2cm) prélevés dans le Cône de l'Amazone (tableau ?) les batonnets Gram positif dominant (55%).

Les conditions d'identification des bactéries isolées du milieu marin ne permettent pas une identification satisfaisante au niveau spécifique. Selon les caractères décrits dans le Bergey's Manual 8^e édition (BUCHANAN & GIBBONS, 1974) une identification au niveau générique est parfois possible. Les formes sporulées (*Bacillus*) sont majoritaires (46%) alors que les Corynéformes essentiellement *Corynebacterium*, *Arthrobacter* et *Kurthia* ne représentent que 9%. Les autres groupes, cocci (9%), Vibrioïdes (9%) et Pseudomonades (18%) ne sont que faiblement représentés.

Par contre, la microflore isolée du sédiment prélevé dans la fraction la plus antérieure du tractus digestif de *Deima validum validum* récoltée dans cette zone, est constituée essentiellement de bactéries Gram négatif, les Pseudomonades sont nettement majoritaires (75%). Les batonnets de type fermentatif constituent 17% de cette communauté. Les Gram positif ne sont représentés que par les Corynéformes (8%), les *Bacillus* dominants dans les sédiments libres, ont totalement disparu aussitôt après l'ingestion.

Lors du transit cette structure évolue peu dans les trois premières sections, les trois groupes isolés de la fraction antérieure persistant avec des pourcentages respectifs sensiblement stables. Dans la quatrième section les Corynéformes disparaissent, la communauté n'étant plus que composée de Pseudomonades (77%) et de Vibrioïdes (23%). Au niveau du cloaque ces derniers disparaissent à leur tour, tandis que les cocci et les *Bacillus* prolifèrent pour constituer chacun 8% de la microflore dominante du matériel prêt à être expulsé.

Le dendrogramme résultant de l'analyse numérique (figure 2) montre que la majorité des souches isolées des sédiments superficiels (8/11) se regroupent entre elles à un indice de distance taxonomique élevé, indiquant une communauté bactérienne diversifiée. Le phénon ainsi constitué

ne s'agrège lui même aux souches isolées des contenus de tractus digestif qu'à un niveau de distance taxonomique beaucoup trop élevé pour permettre un rapprochement taxonomique entre deux souches provenant de ces deux microbiocénoses.

Par contre, les autres phénons rassemblent des souches provenant indifféremment des 5 fractions du tractus digestif (figure 2). Le transit du sédiment ingéré, n'entraînerait donc pas de sélection d'espèces caractéristiques dans chaque fraction du tube digestif.

Contrairement à la microflore isolée des sédiments du Cône de l'Amazone, essentiellement composée de bactéries sporulées Gram positif, celle isolée de la Plaine abyssale de Demerara est constituée exclusivement de batonnets asporulés Gram négatif.

Le type oxydatif est largement majoritaire (95% de Pseudomonades) par rapport au type fermentatif (5%). La microflore isolée du contenu de la première partie du tube digestif de *Pseudostichopus villosus* récoltée à cette station a une structure proche de celle isolée des sédiments avant leur ingestion étant composée de Pseudomonades (86%) et de batonnets fermentatifs (14%).

Cette microflore se diversifie lors du transit dans le tube digestif avec le développement des Corynebactéries puis de *Bacillus* dans les deuxième et troisième sections aux dépens des Pseudomonades. Comme chez *Deima* le passage entre la troisième et la quatrième section montre un changement de structure de la communauté bactérienne, avec à nouveau une nette dominance des Pseudomonades (88%), la réduction des *Bacillus* et des Vibrioïdes ramenés chacun à 6% des effectifs, et la disparition des Corynéformes. Au niveau du cloaque les vibrioïdes disparaissent comme chez *Deima*.

L'analyse numérique montre, comme dans le cas précédent, un regroupement préférentiel entre les souches isolées des sédiments superficiels (figure 3). Parmi les 17 souches isolées de ces sédiments 9 s'agrègent à un indice de distance très faibles dans le phénon D.

A ce même niveau s'associent les souches isolées de la deuxième et de la quatrième fraction du tube digestif. On peut assimiler l'ensemble de ce groupe à une même espèce bactérienne. De même les phénons A, B et C regroupent à un niveau important des sédiments superficiels et de différentes fractions du tractus digestif de *Pseudostichopus villosus*. Les souches ingérées avec le sédiment peuvent donc survivre pendant la durée du transit digestif. A part les phénons E et F qui regroupent la majorité des souches

PHENONS N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Souches isolées	Total
ORIGINES																
Déima I				2	1	2	3		1	2					1	12
II		2	1		2	2	2		1	1	1					12
III					2		2		2	1	2				1	10
IV			1		3	2	2		1							9
V	2	1			7		1		1						1	13
KG 01								2							9	11
Nombre de souches	2	3	2	2	15	6	10	2	6	4	3				12	67
Pseudostichopus																
I		2			2	1	2		3	3	1					14
II		7			3	2	2				2					16
III			2	1				1				2	7	3	3	19
IV				1	1	1	7		1	3	3					17
V	2		1	1				1							1	06
KG 19					3		3		1	3	10					20
Nombre de souches	2	9	3	3	9	4	14	2	5	9	16	2	7	3	4	

Comparaison de la structure des Communautés bactériennes isolées des contenus des différentes fractions du tractus digestif de Deima et Pseudostichopus (I à V) et des sédiments environnants (KG01 et KG19).

isolées de la 3^e section du tube digestif, les autres phénons ont une composition hétéroclite. Il ne semble donc pas s'établir une microflore caractéristique dans chaque section du tube digestif.

La dynamique des populations bactériennes est très intense dans la section la plus antérieure du tractus où la prolifération sélective des Pseudomonades conduit ce groupe à une position nettement majoritaire. Dans les sections suivantes la microflore se diversifie progressivement.

5- Mesure d'activités

5.1- Sédiments superficiels : l'inoculation d'une quantité constante de ^{14}C -glucose à des échantillons de sédiments prélevés à l'aide d'une seringue plastique stérile tronquée (2ml) constitue une technique maintenant courante mais nécessite un traitement géochimique mis au point lors de précédentes missions (ORGON III et IV). Il comprend les extractions suivantes :

- une alcalinisation donnant le ^{14}C alcalinosoluble
- une acidification (HCL, 6N) donnant le ^{14}C -hydrolysable .

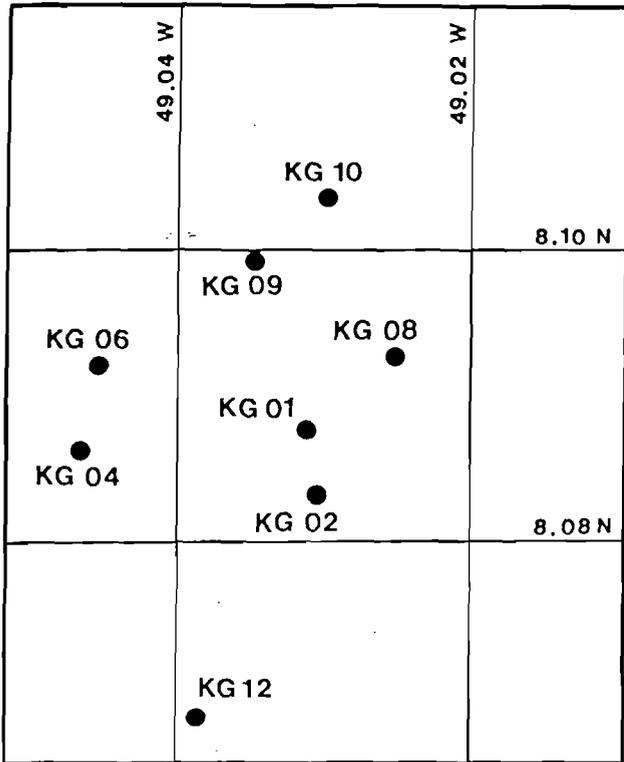
Les résultats sont exprimés en pourcentage du total de ^{14}C récupéré . Les manipulations effectuées en duplicata permettent de constater des résultats homogènes au niveau de chacune des fractions extraites.

5.1.1- Zone A : On relève pour les KG 08 et 09 les plus forts coefficients de minéralisations (12.2% à 13.6% de $^{14}\text{CO}_2$), viennent ensuite les KG 01 et K G 02 (10.9%-13.5%) et à un degré moindre la station KG 09.

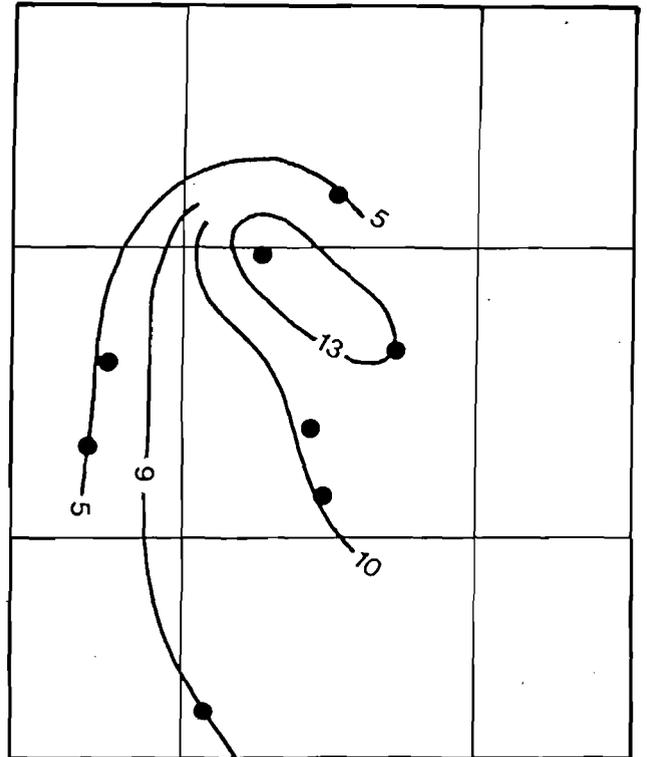
Par contre, la station 06 indique les meilleurs pourcentages en ^{14}C hydrolysables (10.9%-13.5%) et à un degré moindre la station KG 09 (5.5%-6.9%). Or, d'après des études précédentes, cette fraction correspond à des substances d'origine microbienne telles que les membranes, mises en solution par l'hydrolyse. On observe donc une évolution métabolique différente d'un même substrat organique, ici le glucose, sous l'effet des communautés bactériennes de stations différentes.

Le plus souvent, les pourcentages relevés dans la fraction alcalinosoluble (^{14}C -humiques) sont faibles et constants. Mais la station KG 06 se distingue encore des autres par un plus fort coefficient (6.4%-6.5%). Il n'est pas douteux que cette augmentation dérive d'un effet biologique : les microorganismes lors de leur croissance ayant formé des composés alcalinosolubles tels que les bases puriques.

Si on tient alors compte des pourcentages respectifs du composé initial retrouvé dans la fraction minéralisée ($^{14}\text{CO}_2$) et dans la fraction assimilée (^{14}C -hydrolysables) sous l'action biologique, on assiste à un gradient remarquable (figure) pour cette zone d'étude : à savoir sur quelques

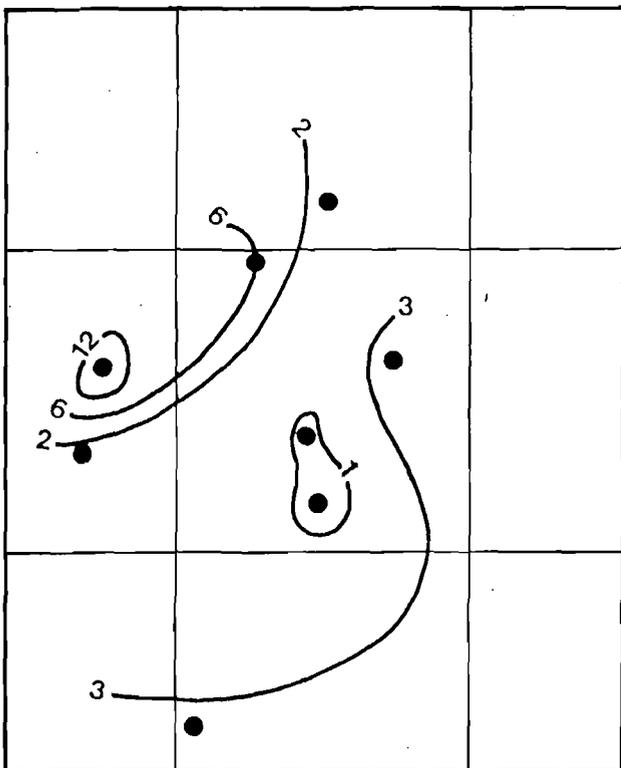


STATIONS

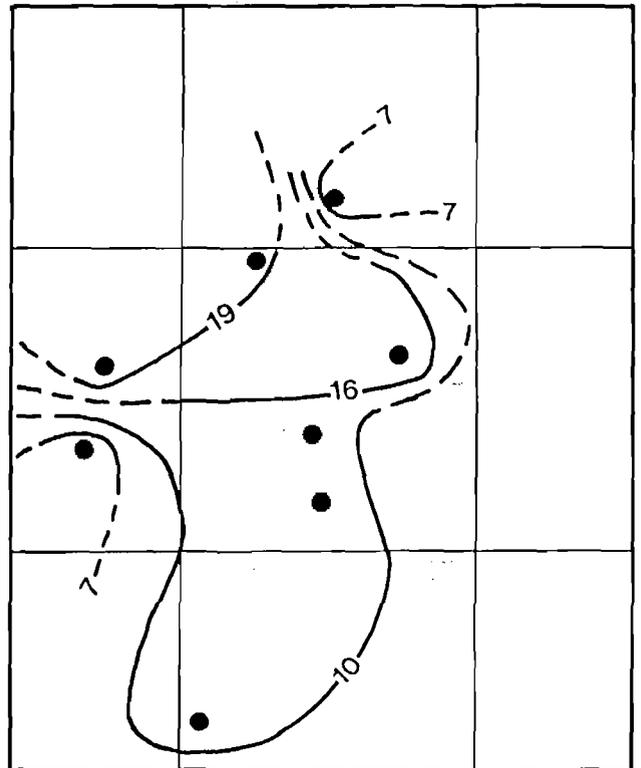


% ¹⁴CO₂

test = ¹⁴C glucose

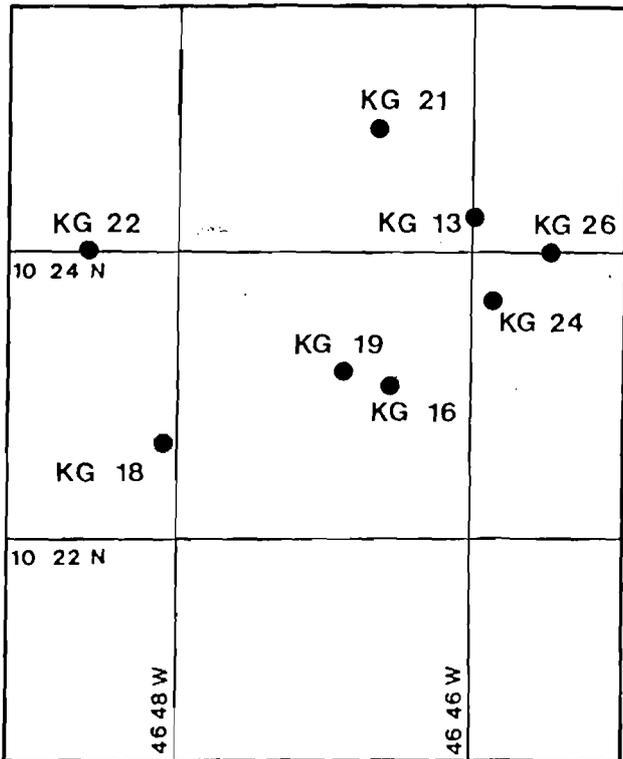


% ¹⁴C Hydrolysable
test = ¹⁴C glucose

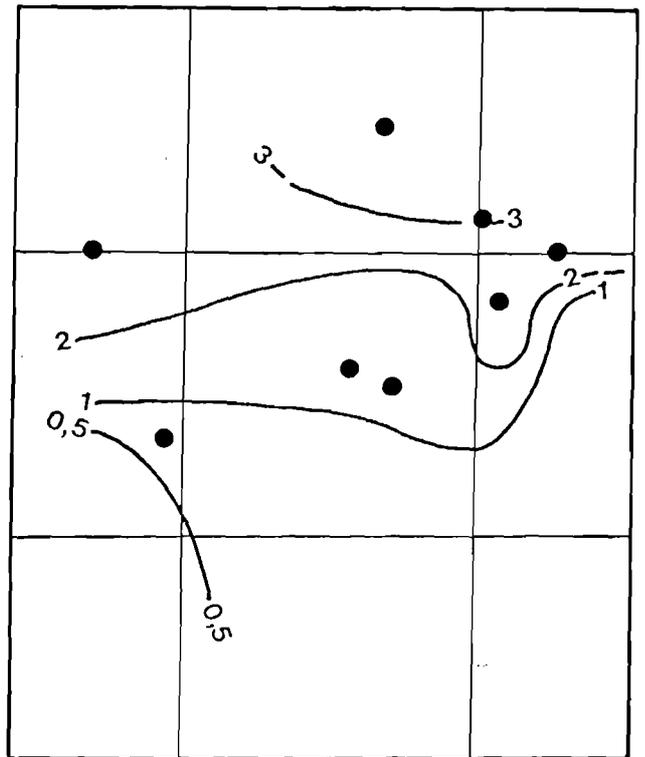


% ¹⁴C - CO₂ - Alcalino.
- Hydrolysable
test = ¹⁴C glucose

Les différentes potentialités métaboliques des communautés microbiennes des sédiments superficiels de chaque station du Cone de l'Amazonie

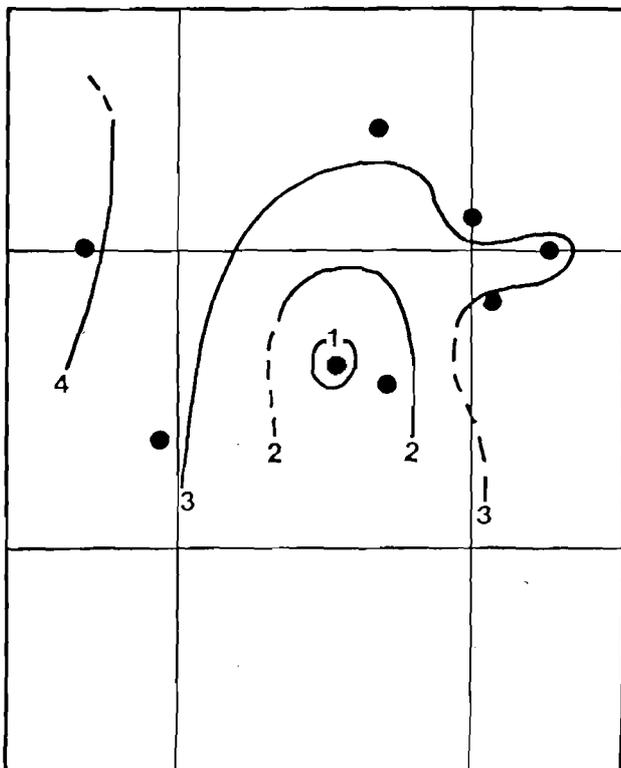


STATIONS

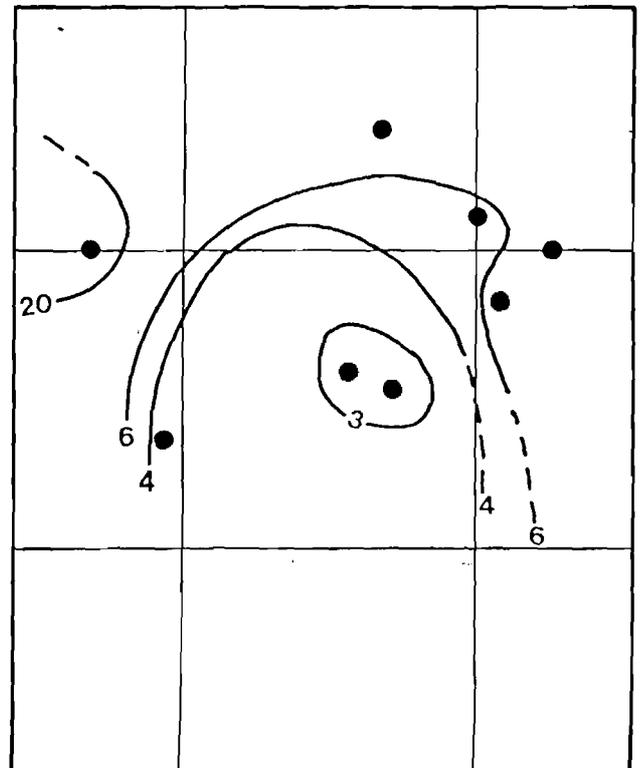


% $^{14}\text{CO}_2$

test = ^{14}C glucose



% ^{14}C Hydrolysable
test = ^{14}C glucose



% ^{14}C - CO_2
- Alcalino.
- Hydrolysable
test = ^{14}C glucose

Les différentes potentialités métaboliques des communautés microbiennes des sédiments superficiels de chaque station de la plaine abyssale de Demerara.

kilomètres, un secteur à forte activité vis à vis du glucose, encadré par des valeurs à activité réduite (3fois moins que les plus fortes).

5.1.2- Zone B: Les activités obtenues à partir du glucose-14C sont nettement ralenties par rapport à la zone précédente. Les courbes d'isovaleurs, aussi bien pour le $^{14}\text{CO}_2$ (3.4% maximum : KG 21) que pour le 14C-hydrolysables ont un gradient peu prononcé. Seules les stations KG 18 et KG 22 manifestent une meilleure assimilation (14C-hydrolysables: 3.5%-4.5%). Quelques stations se singularisent au niveau de l'extrait alcalinosoluble (KG 21, 24,26 et surtout KG 22 avec 12.2%-14.6%).

Dans ce secteur d'étude, l'ensemble $^{14}\text{CO}_2$ -14C-hydrolysables 14C-alcalinosolubles indique une zone périphérique d'augmentation progressive avec une station 22 qui rejoint les stations les plus actives de la zone A.

A L'aide de cette technique, on peut donc dresser une carte "régionale" des transformations bactériennes qu'il serait bon de relier à d'autres paramètres biologiques ou chimiques.

Ces résultats excluent évidemment toute interprétation quant au rôle exact de ces microflores *in situ* puisque les réponses sont suivies à bord dans les mêmes conditions de température mais sans effet de pression.

5.2-Contenu du tractus digestif: l'addition d'une quantité-trace (0.1 microCi) d'acides-amino-14C à une dilution 10-2 de suspension de contenu de tractus digestif amène quelques observations. Tout d'abord sur le plan technique, la récupération sur le filtre d'un mélange sédiment-microorganismes ne permet pas un comptage direct du filtre en scintillation liquide. Elle nous contraint à une transformation par oxydation ou par hydrolyse. Cette seconde méthode (filtre + HCL, 6N placé sous ampoule scellée, hydrolysé pendant 24 H. à 110°C) a été choisie pour sa commodité.

5.2 .1- *Deima* : On note à la première lecture des résultats que la plupart des contenus du tractus ne présentent aucune activité (*Deima* 01-10-11) bien que des concentrations cellulaires de l'ordre de 10^7 - 10^8 bactéries par ml aient été relevées (*Deima* 01). D'autre part la forte activité en *Deima* 13 tout au long du tractus digestif semble montrer que l'activité doit être conditionnée par des facteurs liés à la digestion et à l'état physiologique des cellules bactériennes, c'est à dire aux conditions physico-chimiques et biologiques du tractus.

DEMERABY ZONE A

Distribution du ^{14}C dans les diverses fractures chimiques
(substance test = ^{14}C glucose)

		$^{14}\text{CO}_2$	^{14}C acido soluble	^{14}C alcalino soluble	^{14}C hydrolysable
KG 1		10,6	86,2	2,8	0,4
KG 2		10,3 11,6	86,4 82,6	2,1 4,9	0,8 0,8
KG 4		5,6 5,3	89,5 88,2	3,7 5,1	1,2 1,3
KG 6		4,6 3,9	75,4 78,8	6,5 6,4	13,5 10,9
KG 8		12,2 13,6	81,8 79,0	3,4 3,0	2,7 4,4
KG 9		13,3 13,4	76,2 77,8	3,6 3,2	6,9 5,5
KG 10		5,2 5,6	88,7 88,0	4,1 4,9	2,0 1,4
KG 12		9,1 8,5	84,2 84,9	3,2 3,7	3,5 2,8

DEMERABY ZONE B

KG 13		2,7 2,6	90,5 90,0	3,3 3,8	2,9 3,2
KG 16		1,8 1,5	92,5 92,7	3,8 3,9	1,5 1,6
KG 18		0,5 0,7	90,3 91,8	4,3 3,6	4,0 3,5
KG 19		2,1 2,0	93,6 94,0	3,6 3,2	0,2 0,3
KG 21		3,4 2,8	92,0 88,2	5,1 5,6	3,1 3,4
KG 22		2,9 1,8	77,5 81,5	14,6 12,2	4,4 4,5
KG 24		2,7 2,0	84,9 86,6	8,6 7,9	3,4 3,5
KG 26		1,5	89,3	6,5	2,2

Distribution du ^{14}C dans les diverses fractions extraites des sédiments superficiels après injection de ^{14}C glucose traceur.

5.2.2- *Pseudostichopus* et *Psychropotes*: par contre, offrent des activités très fortes dans tous les cas. On observe notamment une certaine progression de l'activité qui semble traduire une avancée de la digestion ou de la communauté microbienne active vis à vis des composés organiques marqués étudiés.

5.2. 3- Quant aux autres Echinodermes, *Hyphalaster inermis* et *Pourtalesia*, l'activité semble liée à la numération indirecte, puisqu'on observe une activité forte pour 10^6 bactéries par ml, et une activité plus faible pour 10^4 bactéries par ml.

Pour *Pseudostichopus*, le pourcentage de carbone organique minéralisé en $^{14}\text{CO}_2$ est infime (0.5%), il est de l'ordre de 1-2% pour *Deima* 13, de 10% pour les autres *Deima* et 7% pour *Pourtalesia*.

Les premiers essais sur les mesures conjointes d'activité et de numération, effectués à l'aide d'une technique simple, se révèlent donc offrir des différences très significatives selon l'animal étudié et selon la concentration cellulaire des microflores présentes. Les différences importantes observées entre *Deima* et *Pseudostichopus* sont peut-être liées à des charges enzymatiques ou à de fortes teneurs de matières organiques ingérées qui diluent l'adjonction du matériel ^{14}C marqué.

CONCLUSION

En tenant compte des limites imposées par la méthode de numération indirecte utilisée (BIANCHI & BIANCHI, 1971), les résultats obtenus confirment la relative homogénéité de la distribution des peuplements bactériens dans les sédiments superficiels abyssaux (BIANCHI *et al.*, 1979). Ils montrent que les effectifs des communautés bactériennes des contenus de tractus digestifs de tous les animaux benthiques étudiés sont nettement supérieurs de 2 à 3 puissances de 10 à ceux des sédiments superficiels environnants. Les plus fortes concentrations sont toujours observées dans la partie la plus antérieure du tube digestif des holothuries qui offrent donc des conditions favorables à la prolifération bactérienne.

L'analyse taxonomique montre que cette prolifération est sélective. Dans les deux cas étudiés la microflore associée aux contenus de tractus digestif est essentiellement composée de Pseudomonades, même si ce groupe n'est que minoritaire dans le sédiment superficiel environnant.

Bien que les incertitudes de la taxonomie des bactéries isolées du milieu marin ne permettent pas une identification *sensu stricto* des espèces, les deux analyses de classification automatique montrent que les souches constituant les communautés bactériennes des différentes fractions du contenu du tube digestif n'ont que peu ou pas de tendance à se regrouper avec celles constituant les microflores des sédiments superficiels environnants, ce qui confirme leur originalité. Les deux dendrogrammes montrent des communautés diversifiées et les phénons constitués regroupent des souches isolées des différentes fractions du tractus digestif. Il n'y a donc pas dans les cas considérés, constitution de microflores taxonomiquement structurées au niveau de chaque partie du tube digestif.

Le transit digestif sélectionne dès le premier stade de l'ingestion, des types bactériens bien équipés pour hydrolyser certaines macro-molécules, en particulier les corps gras.

En ce qui concerne les possibilités d'utilisation des composés organiques de faible poids moléculaire, la versatilité nutritionnelle s'accroît très nettement chez *Deima*, où le nombre de composés organiques assimilés par plus de 50% du peuplement passe de 4 à 11 entre l'oesophage et le cloaque. Inversement, chez *Pseudostichopus*, on observe une nette tendance à la spécialisation le nombre de composés assimilés par plus de 50% du peuplement passant de 20 au niveau du pharynx à 3 dans le cloaque.

L'étude des activités métaboliques suggère une juxtaposition de deux types de communautés : sédiment libre-sédiment en transit qui se complètent dans leur comportement enzymatique et nutritionnel. En effet les souches du sédiment libre semblent être plutôt aptes à hydrolyser et à utiliser les glucides, tandis que celles des communautés entériques portent leur préférence sur l'hydrolyse des lipides et protéines et l'assimilation des acides gras, acides dicarboxyliques, hydroxy-acides et certains acides aminés. D'autre part les microflores entériques possèdent une versatilité nutritionnelle plus importante qui, liée à leurs effectifs, offre une potentialité catabolique non négligeable.

Les résultats actuels sont trop fragmentaires pour permettre d'observer une éventuelle spécialisation physiologique des communautés bactériennes entériques permettant de faciliter les processus de digestion chez l'hôte.

Les mesures d'activité hétérotrophe effectuées au moyen de traceurs glucose ^{14}C permettent de montrer que les activités métaboliques des communautés bactériennes des sédiments abyssaux superficiels varient selon les zones. Dans le Cone de l'Amazone on observe un net gradient de minéralisation du glucose sur une distance de quelques kilomètres. Dans la plaine abyssale de Demerara les activités hétérotrophes sont ralenties par rapport à celles des sédiments superficiels du Cone de l'Amazone, bien que les effectifs bactériens et les profondeurs soient du même ordre de grandeur dans ces deux zones.

Les abondantes microflores associées aux différentes fractions du contenu du tractus digestif de l'holothurie abyssale *Deima* ne manifestent que peu d'activités métaboliques vis à vis du glucose. Par contre les communautés bactériennes de *Pseudostichopus* et *Psychropotes* manifestent des activités hétérotrophes très fortes, croissant de l'oesophage vers le cloaque.

Conclusion: dans le milieu abyssal, caractérisé par des communautés bactériennes faiblement développées, les microflores associées aux contenus de tractus digestif des Echinodermes présentent des concentrations cellulaires considérablement plus importantes. Par leurs équipements enzymatiques ces communautés entériques complémentaires de ceux des microflores libres des sédiments superficiels, peuvent participer à la transformation des matières organiques du domaine abyssal.

ETUDE DE LA DYNAMIQUE DES COMMUNAUTES MICROBIENNES
ET DE LEURS ACTIVITES HETEROTROPHES DANS LES PARCS
CONCHYLICOLES

L'objectif de cette étude est d'apprécier le comportement des communautés bactériennes d'un système entrophe où sont installés des parcs conchylicoles, en réponse à des stress d'origine chimique, tel des enrichissements de la masse d'eau par différentes formes d'azote.

La réactivité des communautés bactériennes des eaux du Bassin d'Arcachon a été étudiée dans deux conditions climatiques différentes, automne et hiver, imposées par les dates de mises en application de la présente convention.

MATERIEL ET METHODES.

SYSTEME ETUDIE

De l'eau de mer est prélevée à l'étale de basse mer en baie d'Arcachon dans les parcs à huitre de l'île en septembre 1980 et en février 1981.

Cette eau est immédiatement distribuée en bacs en matière plastique alimentaire de 6 litres (septembre) ou 60 litres (février) maintenus à température ambiante sans renouvellement d'eau ni agitation, l'expérience durant 24 heures, les enrichissements de l'ordre de 30 mg/l sont les suivants :

septembre 1980:

Bac 6 : Témoin, pas d'enrichissement

Bacs 1 et 3 : Gélatine, $320 \mu \text{At } 9 \text{ l}^{-1}$

Bacs 2 et 4 : $\text{NH}_4 \text{ Cl}$, $560 \mu \text{At } \text{gl}^{-1}$

Bacs 5 et 7 : Casamino acides, $214 \mu \text{At } \text{g l}^{-1}$

février 1981:

Bac 3 : Témoin, pas d'enrichissement

Bac 2 : Casamino acides, $214 \mu \text{At } \text{gl}^{-1}$

Bac 1 : $\text{NH}_4 \text{ CL}$, $560 \mu \text{At } \text{gl}^{-1}$

ECHANTILLONNAGE

Les échantillons suivants ont été prélevés :

0. 1. 3. 6. 9. 12. 24. heures (septembre)
0. 3. 5. 7. 9. 11. 24. heures (février).

DENOMBREMENTS DES PEUPELEMENTS BACTERIENS

Les dénombrements de microflore totale ont été effectués par numération directe au microscope à épifluorescence en utilisant l'acridine orange comm. fluorochrome selon HOBBIÉ et al., (1977) pour définir le nombre total de cellules bactériennes, quel que soit son type et son état physiologique. En effectuant des numérations par classe de taille on estime la biomasse des communautés bactériennes de chaque échantillon.

Les bactéries viables hétérotrophes cultivables sur milieu peptoné BIANCHI et BIANCHI (1971) ont été dénombrées après 15 jours d'incubation sur milieu 2216 E d'OPPENHEIMER et ZOBELL (1962).

STRUCTURE DES COMMUNAUTES BACTERIENNES

Par isolement au hasard, au moyen d'une grille d'échantillonnage de 30 colonies bactériennes parmi les cultures sur gélose nutritive 2216 E.

Après purification ces souches sont décrites par 87 caractères morphologiques, physiologiques, et biochimiques (BIANCHI et al., 197).

Les structures des communautés des différents échantillons sont comparées au moyen d'un programme de classification automatique selon le principe adansonien utilisant le coefficient de similitude de Jaccard pour la comparaison des souches et le critère de la distance moyenne pour définir les agrégations successives.

MESURE D'ACTIVITE HETEROTROPHE

En utilisant du ^{14}C glucose et des ^{14}C acides aminés injectés à des concentrations traces, (0,5 à 1,5 g/l) à des échantillons de 15 ml incubés à la température des bacs expérimentaux, on détermine :

- le ^{14}C assimilé sous forme particulaire (cellules bactériennes)
- le ^{14}C respiré par les communautés bactériennes ($^{14}\text{CO}_2$).
- la vitesse maximale d'utilisation du glucose et des acides aminés par les communautés bactériennes.

RESULTATS ET DISCUSSION.

Les situations hivernales et automnales décrites lors de ces deux expériences d'Arcachon font état d'une numération plus faible au départ en septembre qu'en février. (Figure 1). Les concentrations bactériennes correspondent à celles décrites par d'autres auteurs, dans des situations analogues et pour les saisons correspondantes, c'est à dire dans des eaux cotières entrophes, relativement dessalées par des apports d'eaux douces. (ZIMMERMANN, 1977 : $200 \cdot 10^4$ bact/ml dans le kiel Fjord, WRIGHT, 1978 : 200 à $400 \cdot 10^4$ bact/ml dans l'estuaire de l'Essex, HAGSTROM, 1979 : $150 \cdot 10^4$ bact/ml dans la mer baltique).

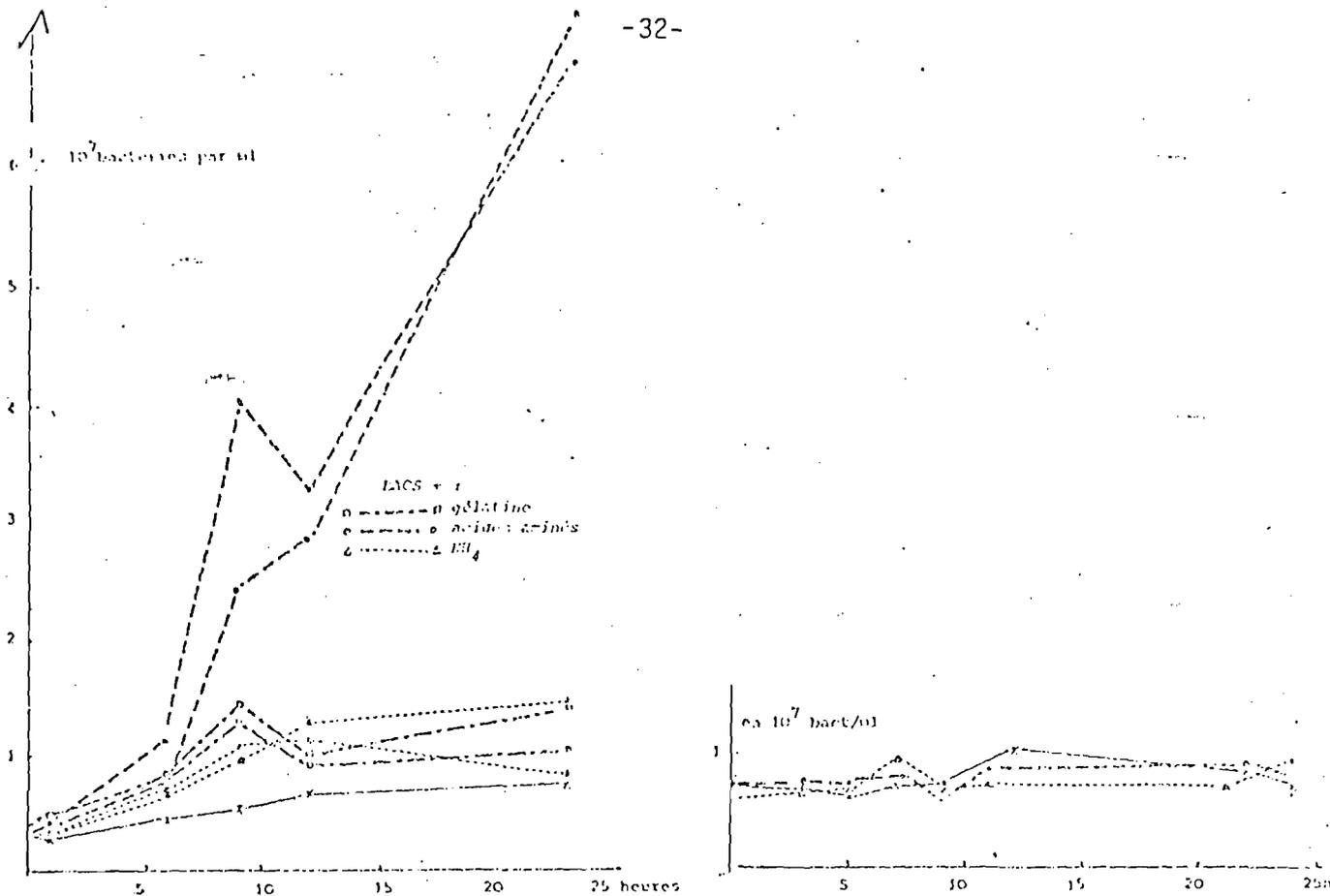
Peu de valeurs de biomasse sont citées dans la littérature, parce que souvent faibles, les volumes bactériens moyens, étant de $0,66 \mu^3$ (ZIMMERMANN, 1977, FERGUSON, 1976). Or dans l'expérience de septembre, sont mises en évidence d'importantes variations de taille des bactéries, apportant une information complémentaire à celle de la numération. Les deux courbes concentration- Biomasse ne sont pas corrélées, et un phénomène de succession écologique peut être mis en évidence. Les pics de biomasse précédant ceux de numération.

Par ailleurs, en Février, il n'y a pas de distinction nette entre ces deux paramètres. Du fait même de l'établissement du régime hivernal (9°C en février), les populations bactériennes restent stables. Numériquement, elles ne réagissent pas à l'enrichissement en azote. (Figure 2).

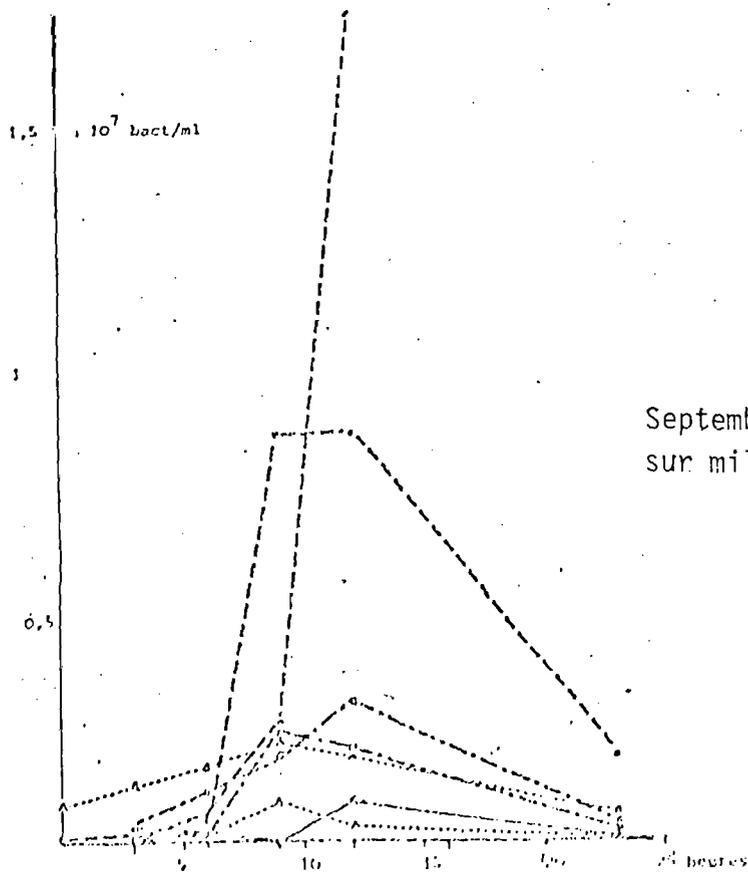
Les résultats qualitatifs (Figure 3 et 4) permettent de mettre en évidence, à la fois par l'évolution des potentialités métaboliques de ces communautés, par l'évolution des écotypes en 24 heures, et enfin par une mesure globale d'indice de diversité une modification de la communauté bactérienne dans le sens d'une spécialisation de celle-ci (figure 5).

En septembre, une chute de la diversité à T 24 accompagne l'augmentation du nombre de bactéries. Cette évolution semble correspondre à celle qui se produit au niveau bactériologique juste après un bloom de phytoplancton (BIANCHI, 1981). Elle est liée à une adaptation de la communauté bactérienne à l'enrichissement en azote du milieu.

Cette spécialisation des communautés bactériennes a lieu également en février bien que les valeurs d'indices de diversité ne permettent pas de conclusion formelle. (Tableau 1). Il est en effet difficile de comparer les valeurs de \bar{H} établies pour des nombres de souches très différents, une diminution du nombre de souches entraînant souvent une diminution de

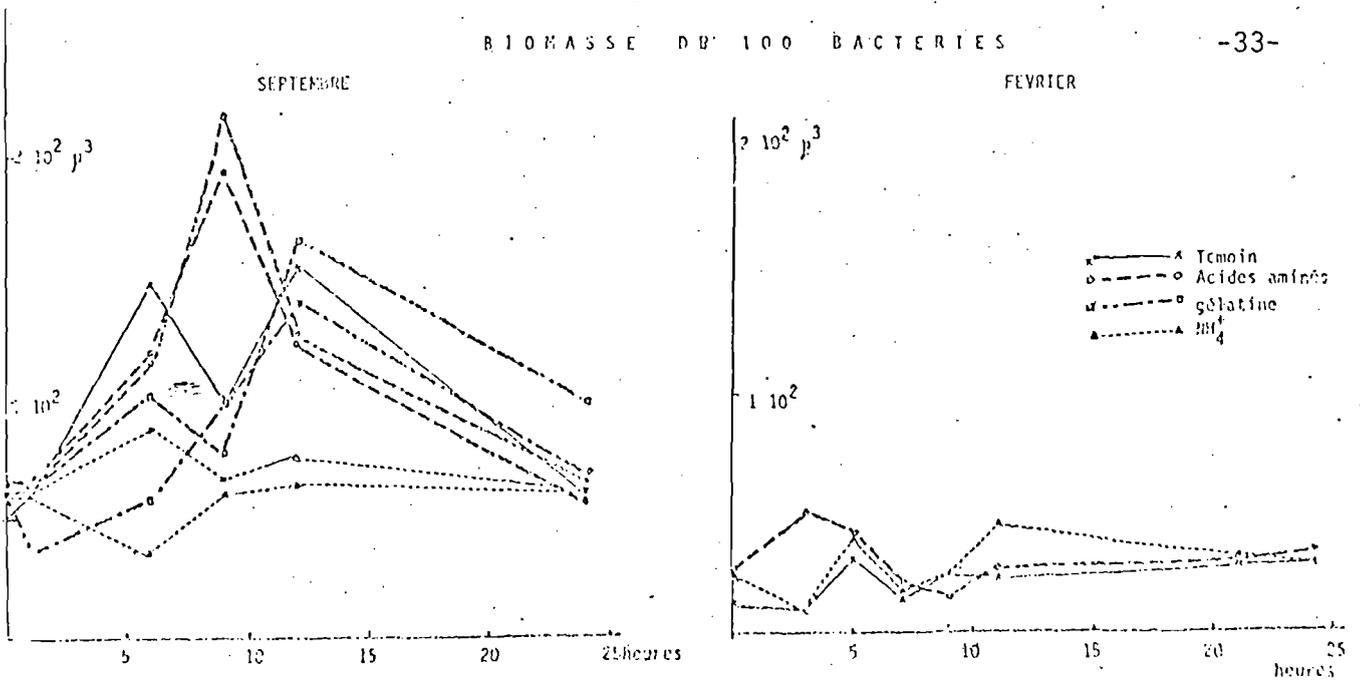


: Comptages directs Septembre et Fevrier



Septembre: numération indirecte sur milieu 2216E.

Figure 1. Numération des peuplements bactériens.



Biomasse de 100 bactéries, Septembre et Février

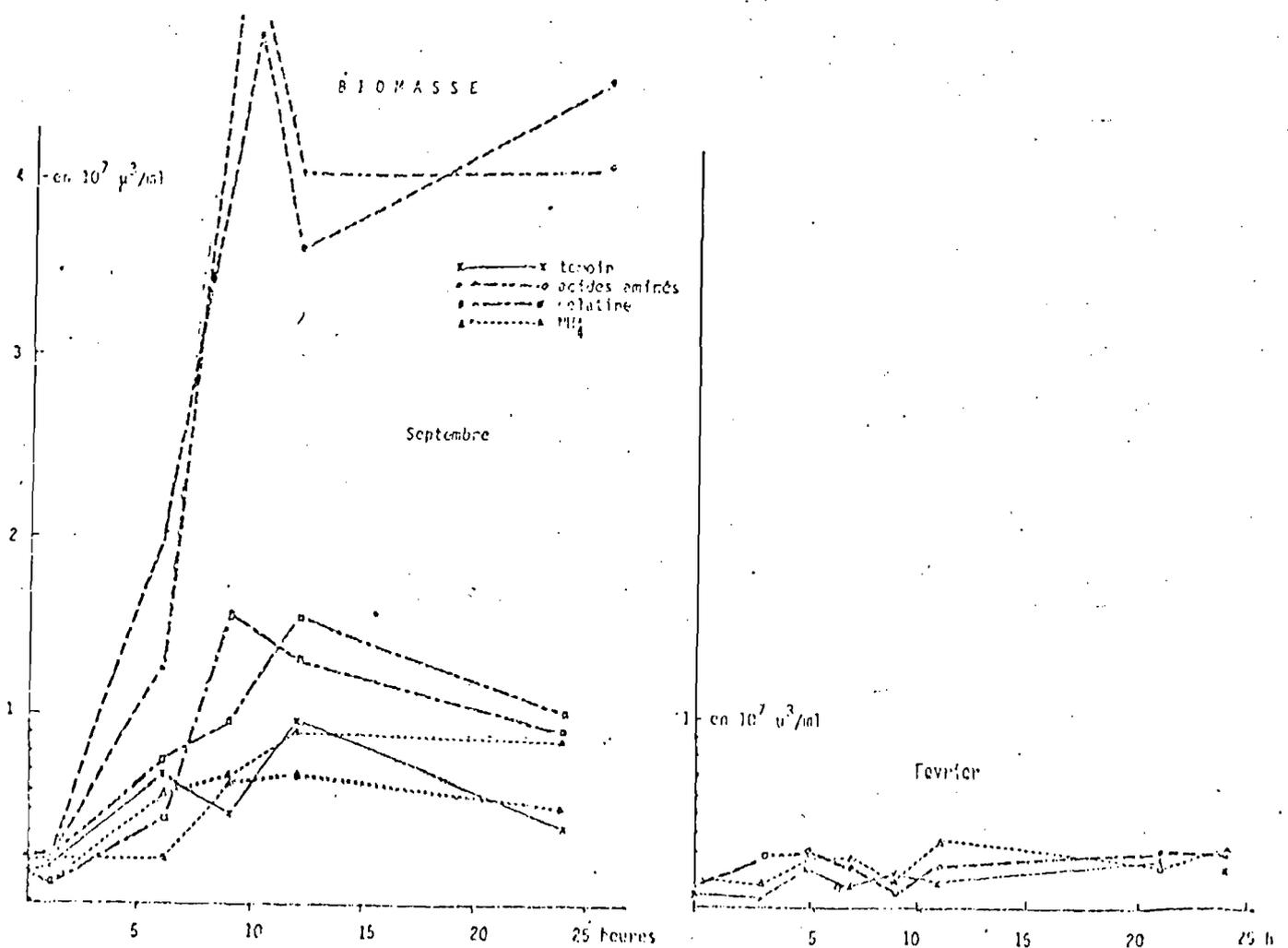


Figure 2 : Biomasse totale, Septembre et Février

de l'indice \bar{H} (MILLS, 1980).

On peut pourtant mettre en évidence cette spécialisation à partir de profils des communautés et des études sur les potentialités cataboliques. En février, à T 0, la population est diversifiée (figure 3). Elle ne présente pas de groupe dominant, bien que composée de souches Gram négatif oxydase positive ne fermentant pas le glucose, assimilées à des Pseudomonades

En septembre, (figure 4) au temps 0, la moitié des souches de l'échantillon est peu active sur les milieux testés, si ce n'est, la nitrate réductase et l'utilisation de quelques composés carbonés. L'autre moitié utilise le glucose en aéro-anaérobiose, possède peu d'exoenzymes, et utilise un fort pourcentage de sucres. Ce profil correspond à celui du genre *Vibrio*

Les microflores prélevées dans les deux bacs "gélatine", d'une part NH_4^+ d'autre part, présentent des populations distinctes à T 1 et T 9.

- Pour la gélatine, le bac 1 présente à T1 des souches oxydase négatives qui ne sont pas présentes dans le bac 3. Celles-ci disparaissent ensuite, le regroupement des souches dans le dendrogramme de T9 se faisant indifféremment dans les deux bacs.

- De même, un groupe isolé à T1 dans le bac 2 (NH_4^+) disparaît ensuite. On voit ainsi comment la spécialisation de la communauté efface les dissemblances des communautés initiales, la population adaptée étant identique dans les duplicata après quelques heures de culture.

On remarquera également combien l'effet de biomasse de T9 est important. Les grosses bactéries ne représentant que 5 à 10% du peuplement total ne modifient pas les résultats qualitatifs au point de faire apparaître des dominances à ce niveau.

Par contre, à T24, l'installation de la population sélectionnée par l'enrichissement apparaît. Dans le bac Acides Aminés, des bactéries envahissantes, riches en exoenzymes, utilisant beaucoup les petites molécules organiques, et réduisant les nitrates, prennent le pas sur un autre groupe moins important de souches nitrate réductase positive et utilisant peu de sucres. Ce second groupe est par contre dominant dans le bac NH_4^+ à T24 où se trouvent également des bactéries envahissantes.

Le bac gélatine possède, à T 24, une seule population dominante, ce sont les souches actives sur substrats carbonés, faiblement équipées en exoenzymes, et nitrate réductase négatives.

On observe donc, même dans des cas où une population dominante, préexiste déjà cas des bacs 1 (gélatine) et 2 (NH_4^+), une évolution de la communauté bactérienne vers une population plus active, bien adaptée aux

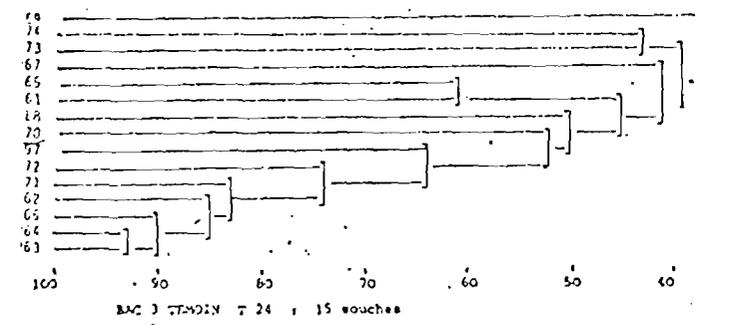
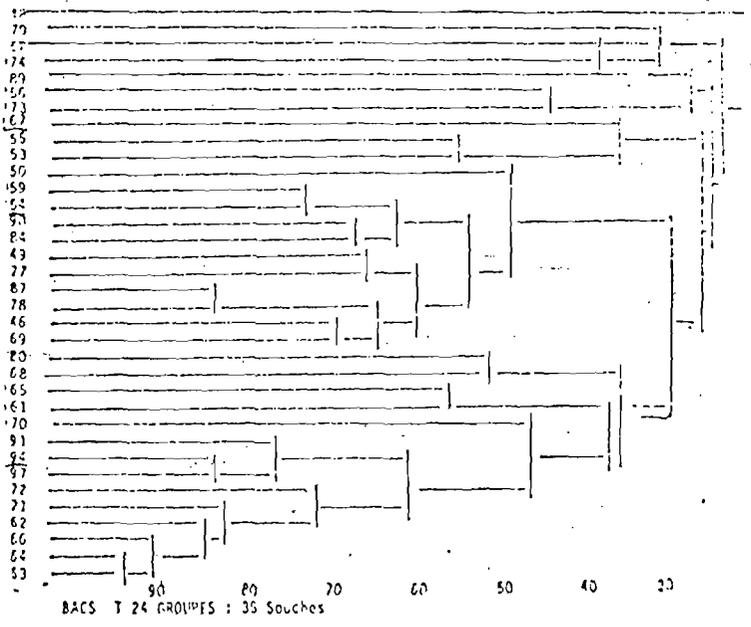
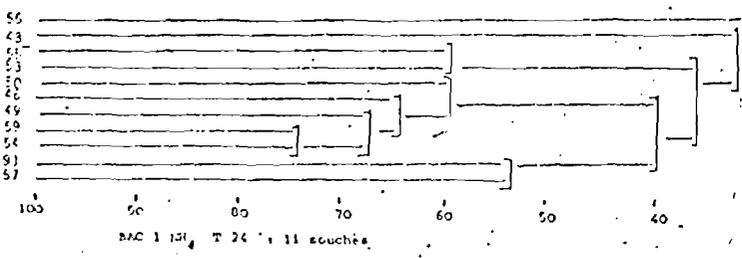
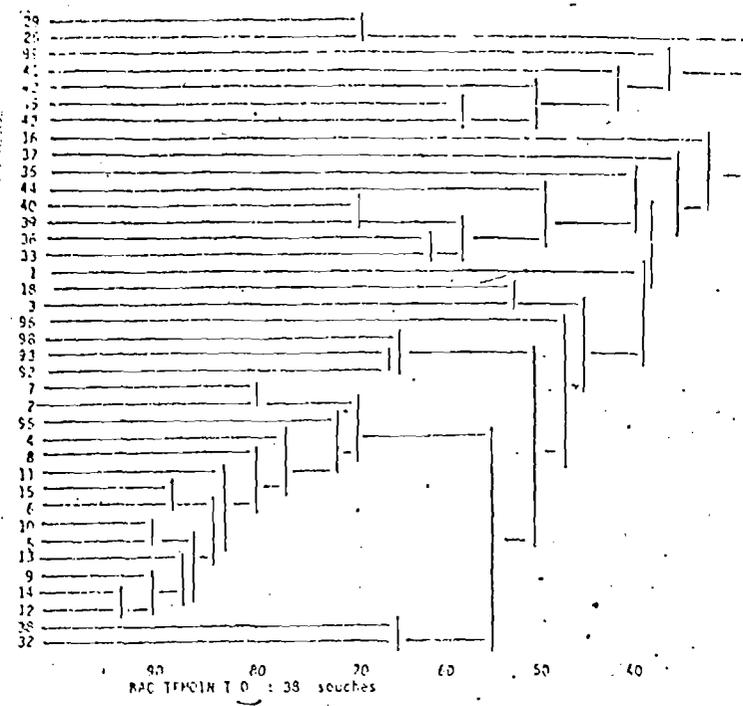
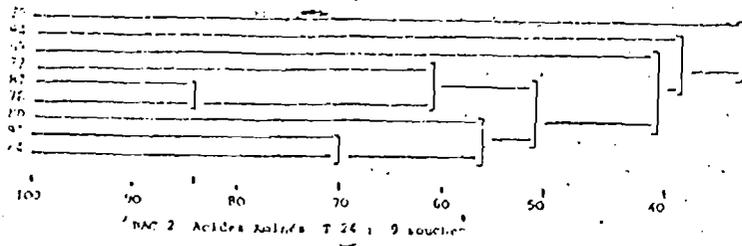


FIGURE 3 DENDROGRAMMES DE FEVRIER

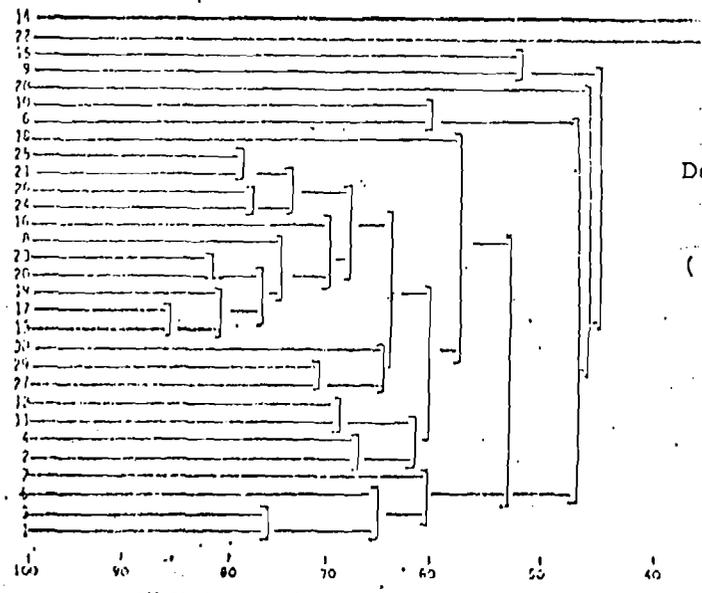
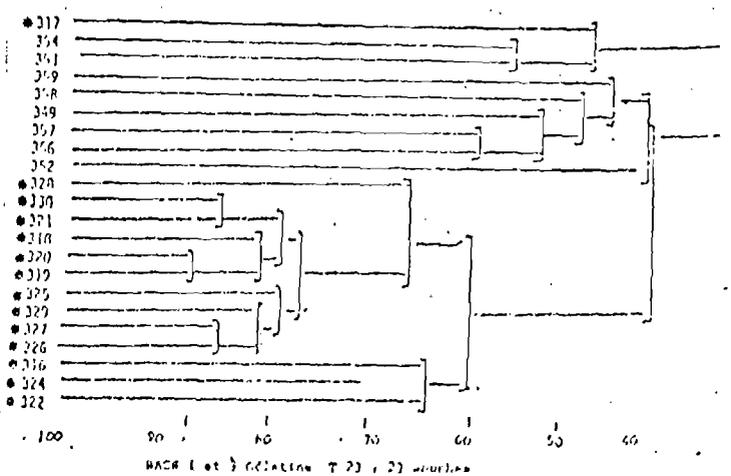
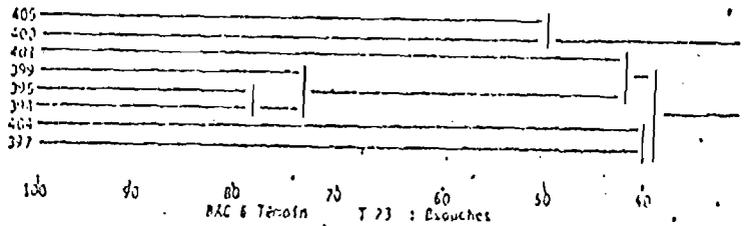
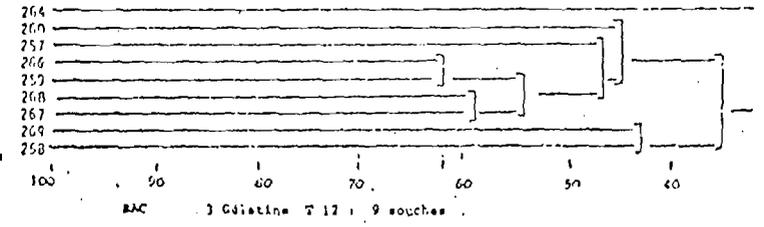
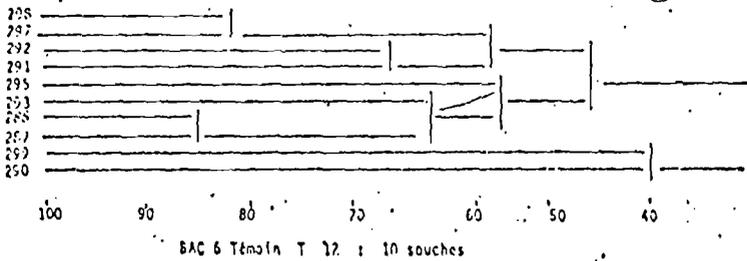
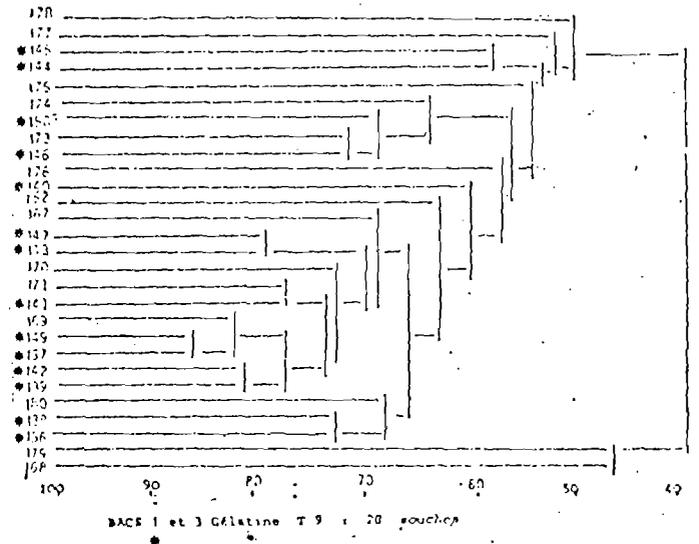
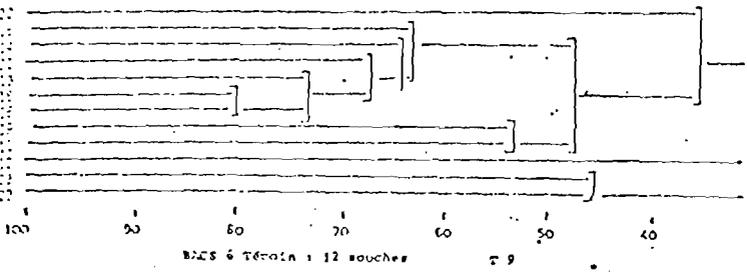
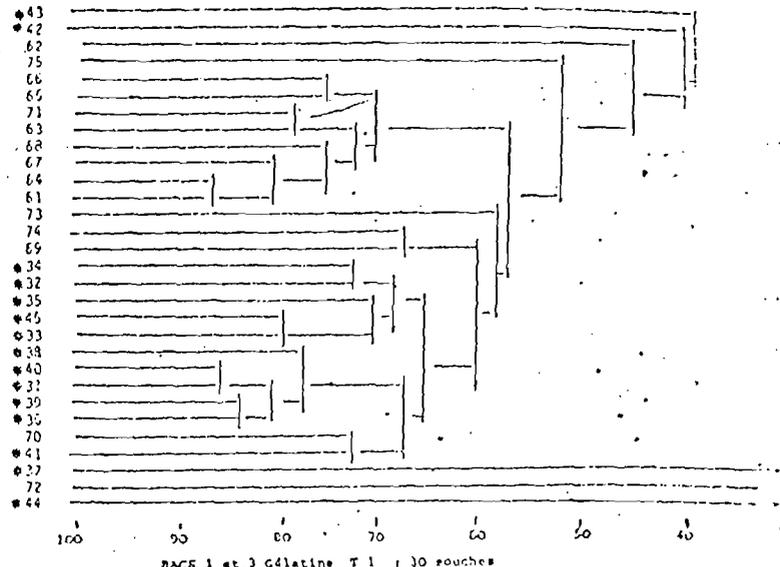
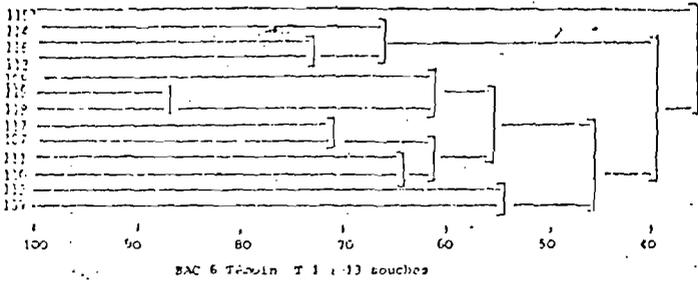
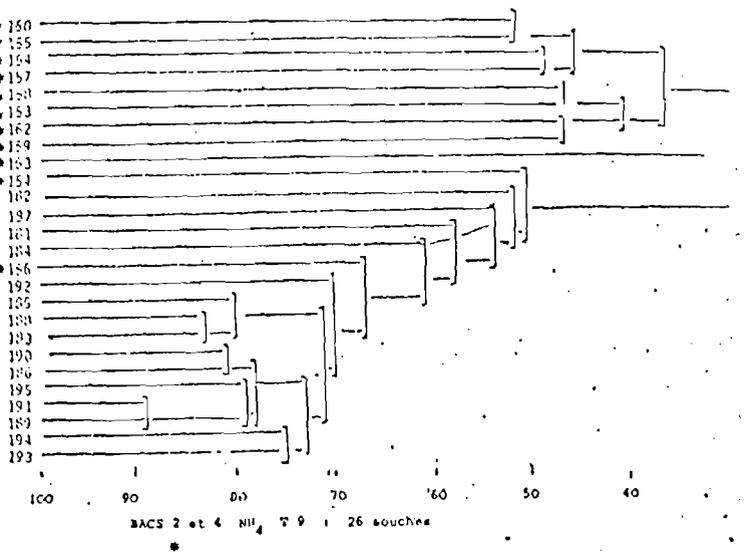
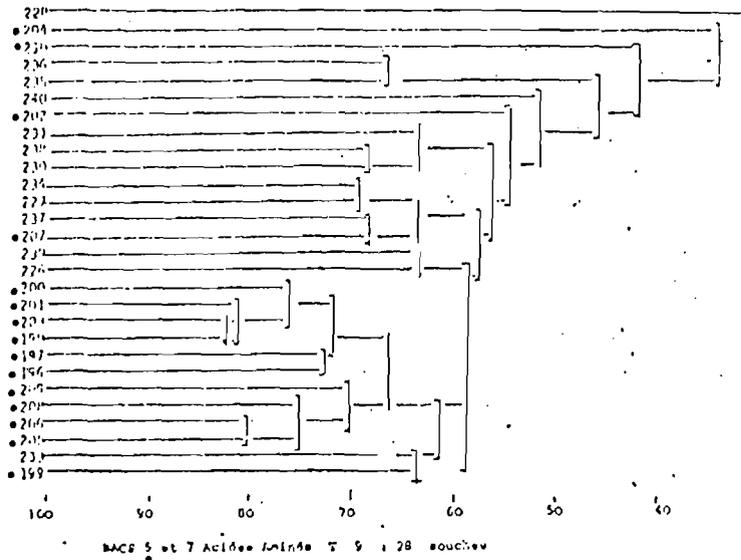
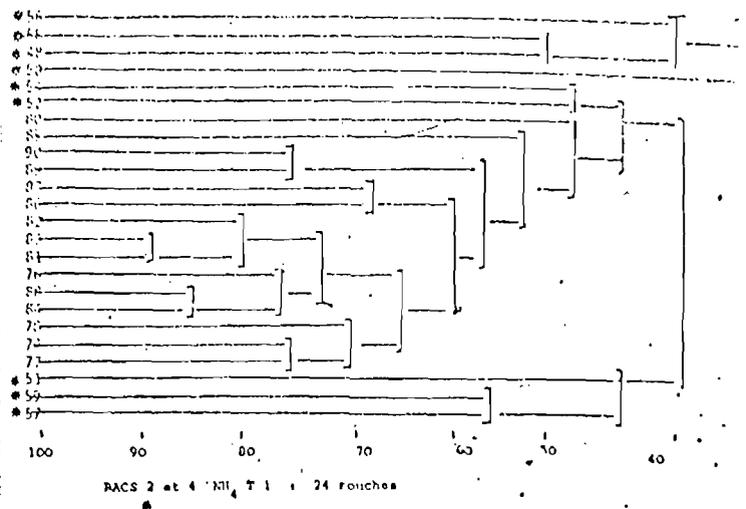
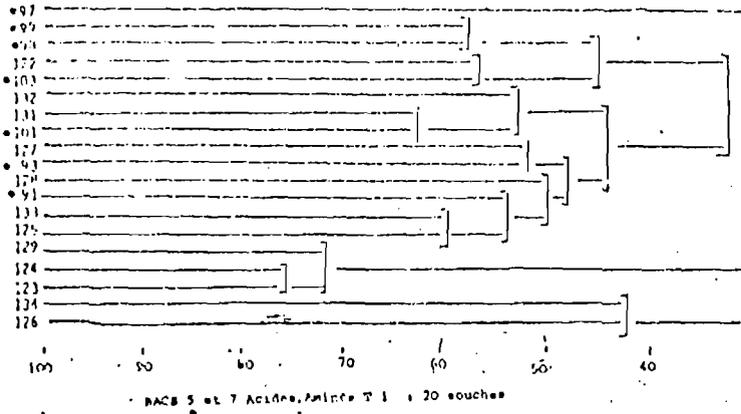


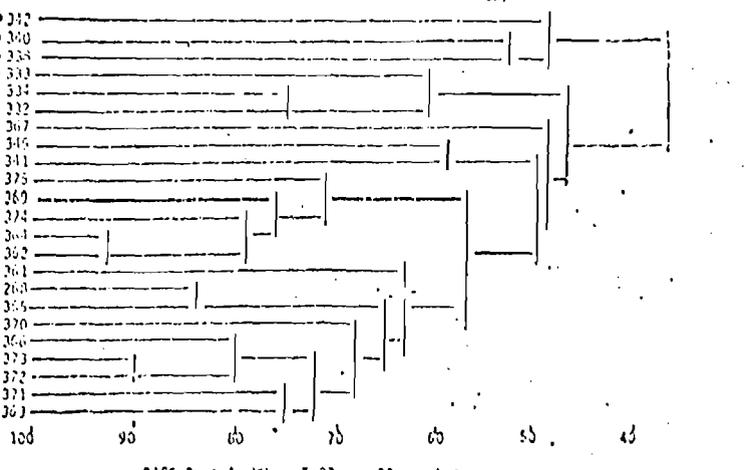
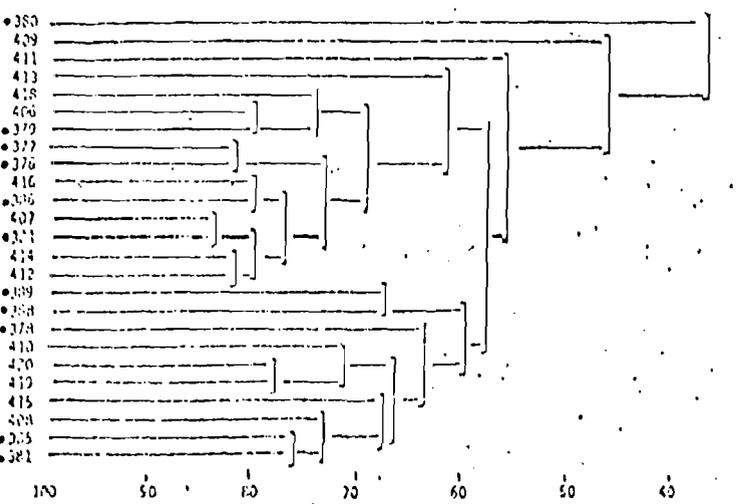
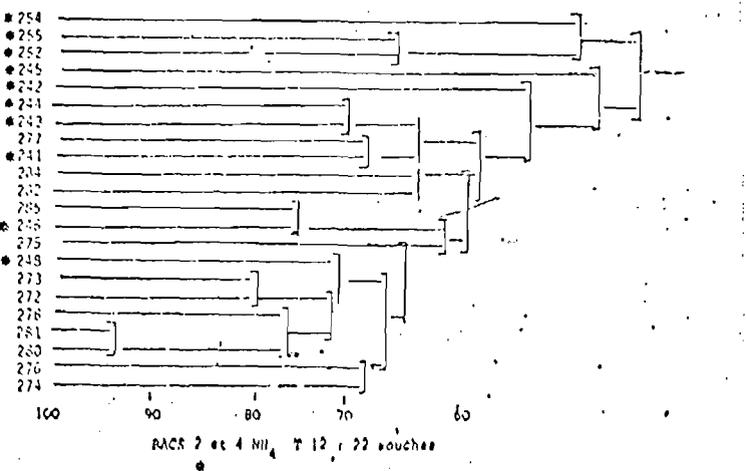
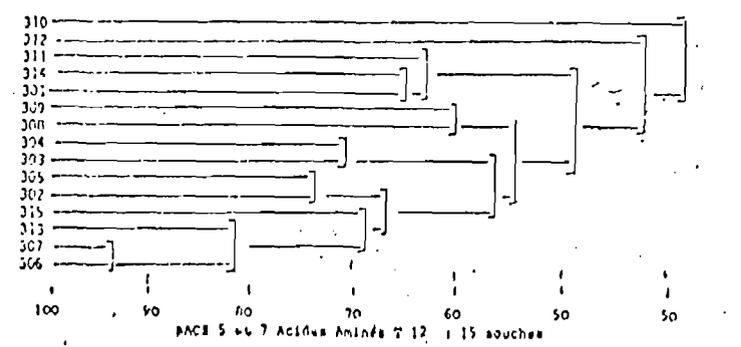
FIGURE 4
Dendrogrammes de Septembre
T 0
(voir aussi les deux
pages suivantes)

ENDROGRAMMES DE SEPTEMBRE FIGURE 4 suite





DENDROGRAMMES DE SEPTEMBRE FIGURE '4 suite



conditions nouvelles.

Ceci dans la possession des exoenzymes, puis de petites molécules carbonées dans le cas de la gélatine, et dans l'utilisation de petites molécules carbonées au début (T 12), puis dans une utilisation plus diversifiée (à la fois exoenzymes et simples molécules carbonées à T 24) dans le cas du bac AA.

Le double enrichissement brutal d'une source de carbone et d'azote organiques peut correspondre aux mêmes circonstances que celles de mortalité subite de phytoplancton après un bloom important.

Par contre, 24 heures de culture après un simple enrichissement en azote minéral ne sont pas suffisants pour spécialiser la population bactérienne : carence en C.

Par ailleurs, l'influence de la température (9°C en février), n'est pas suffisante pour inhiber l'évolution qualitative du peuplement bactérien que ce soit dans les bacs NH_4 ou Acides Aminés après 24 heures la population dominante est active sur tous les substrats et fermente le glucose : on retrouve le profil du genre vibrio. Ceci ne peut être expliqué que par un état d'activité adapté aux conditions ambiantes ce qui apparaît nettement dans les mesures d'activité hétérotrophe.

En septembre (figure 6), on observe des valeurs élevées d'activité, présentant des maxima et des décroissances, des différences entre les différents enrichissements et des réponses différentes à chaque traceur étudié. En Février (figure 7) les valeurs d'activité sont faibles, à la limite de la marge d'erreur pour les mesures d'hétérotrophie sur acides aminés. Par contre, les variations d'hétérotrophie sur glucose, plus élevées, peuvent être interprétées. Une bonne interprétation des résultats nécessite une comparaison entre les expériences de Septembre et de Février d'une part, entre les réponses aux différents enrichissements d'autre part. Ceci démontre l'intérêt des valeurs de P/B, qui sont indépendantes de la biomasse totale de l'échantillon, et montrent une notion de productivité (MARGALEF, 1957).

Des renseignements complémentaires sont apportés par la valeur de V_m , qui elles sont indépendantes de la concentration en substrat marqué (GRIFFITH, 1977). Les rapports P/B, de plus, accentuent les différences entre bacs, entre les substrats testés, entre les deux expériences.

En septembre, on dégage par l'étude de P/B la double influence du quantitatif et du qualitatif (figure 8).

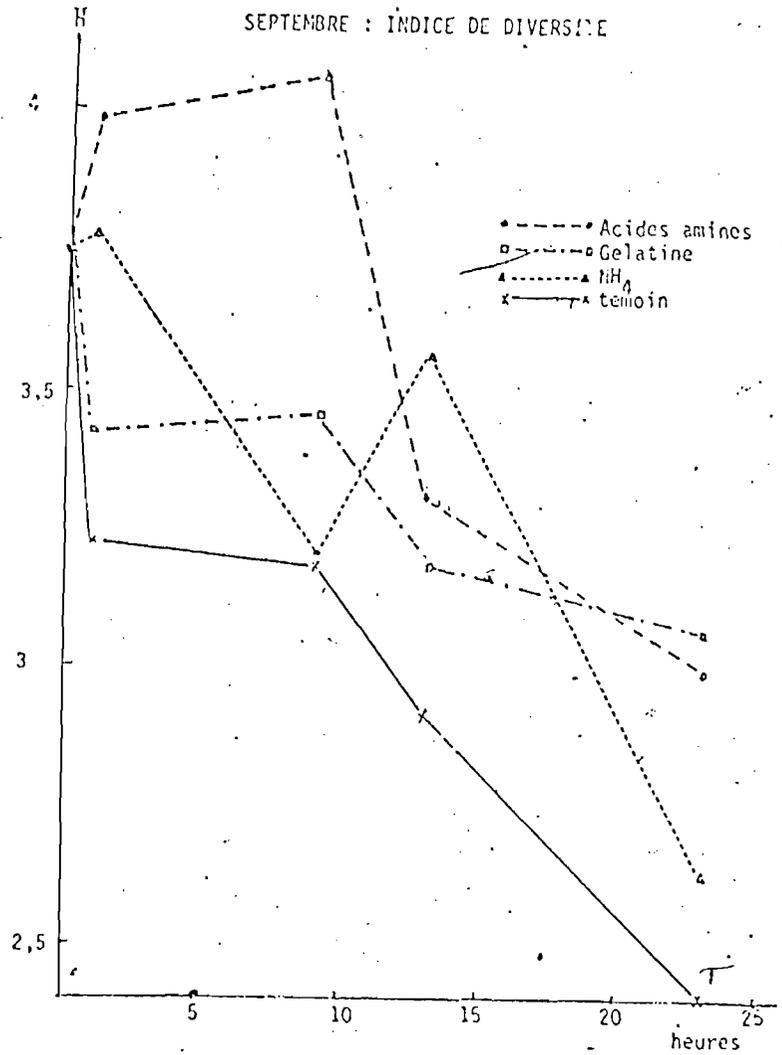


FIGURE 5 : Septembre, INDICES DE DIVERSITE

TABLEAU ARCACHON FEVRIER Indices de diversité

TABLEAU ARCACHON FEVRIER : Indices de diversité

TEMPS	T 0	T 24 AA	T 24 NH ₄ ⁺	T 24 Témoin
\bar{H}	3,63	2,70	3,27	2,35
Nombre de souches	30	9	11	15

Du point de vue quantitatif, on remarquera deux faits principaux. La part de production des bactéries du bac Acides Aminés sert uniquement à la fabrication de biomasse, ce qui explique les faibles valeurs de P/B sur acides aminés et sur glucose, tout au long des 24 heures. Par contre, le bac NH_4^+ possède, surtout sur le glucose, une activité par unité de biomasse bien supérieure à celle des autres bacs. Cette capacité d'utiliser une source de carbone de façon intense n'est pas mise à profit dans le bac NH_4^+ puisqu'il ne possède qu'un enrichissement en azote, alors que les bacs Acides Aminés et gélatine ont en plus une source de carbone. Le bac NH_4^+ est à rapprocher en ce sens du bac témoin, qui possède des valeurs de P/B élevées également.

Au bout de 24 heures, les grosses cellules sont mortes ou en état de faible activité, la différence entre le P/B ne s'explique plus que par les différences de numérations. Le témoin possède donc la valeur de P/B la plus élevée (faible numération à petite cellules), et le bac enrichi en Acides Aminés le plus faible (forte numération à petites cellules).

L'influence qualitative des grosses cellules est également visible. On observe sur acides aminés ou sur glucose (T9) qu'à biomasse égale les petites cellules (bac NH_4^+ et témoin) sont plus actives que les grosses (bacs AA et gélatine).

Par ailleurs, on observe après 3 heures d'incubation l'effet stimulant sur l'activité de petits composés immédiatement assimilés. Cet effet est très important pour les bacs NH_4 et Acides Aminés (activités les plus élevées, respiration les plus faibles).

L'effet immédiat de la gélatine est inapparent sur l'activité hétérotrophe, que ce soit sur acides aminés ou sur glucose. En effet, la communauté initiale n'est pas adaptée à ce composé 15% seulement pour l'IM.E alors que l'IM.AA est de 64%, et utilise le glucose pour 80% en oxydation et (ou) en fermentation.

L'activité spécifique, V_m/N , permet d'établir, en septembre, l'influence de la numération puis de la biomasse, l'écart devenant croissant entre les bacs NH_4 et Acides Aminés (figure 9). Des valeurs de 5 à 15 10^{-12} μ g/h/cellule sont citées (WRIGHT, 1978) pour l'uptake de glucose. Les valeurs peuvent varier de 0,016 à 18,6 10^{-3} μ g/h/cell. (GOULDER, 1979). Les mesures enregistrées pour V_m/N en Septembre ne sont pas simplement expliquées par les évolutions qualitatives des populations, le pourcentage de bactéries utilisant le glucose ne variant pas au cours du temps de la même façon que V_m/N

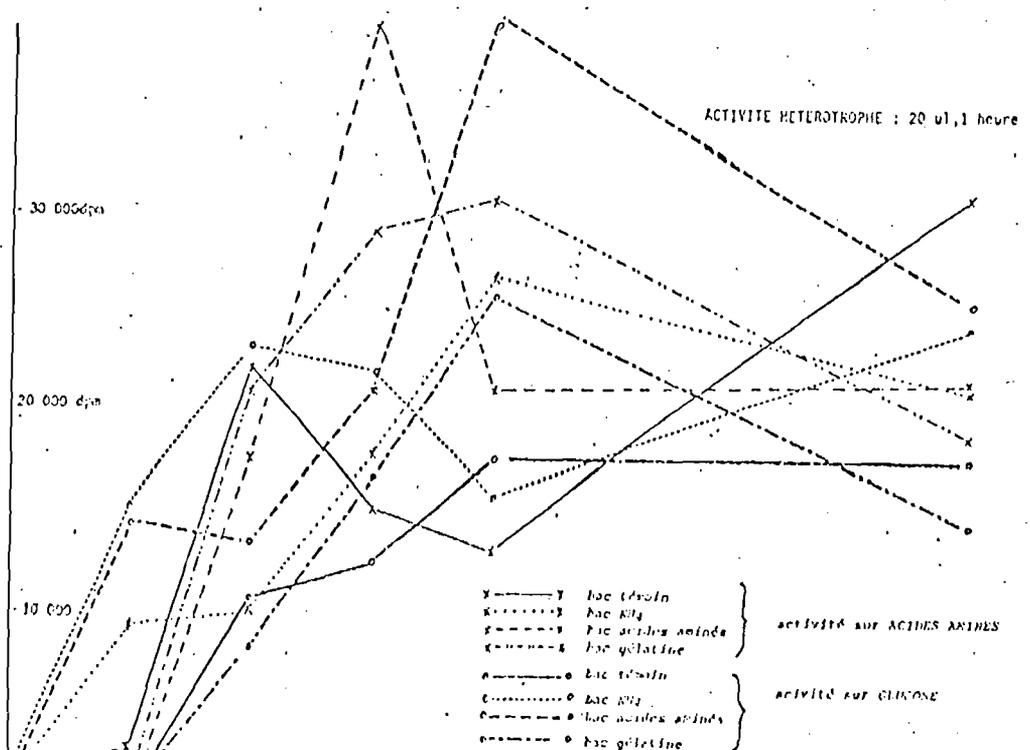
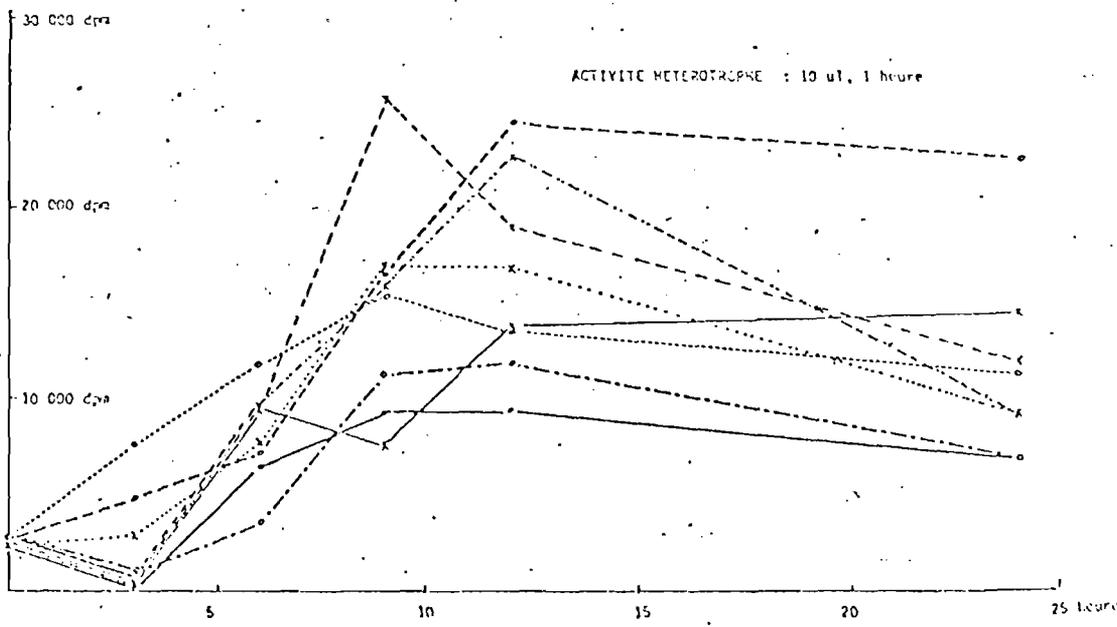
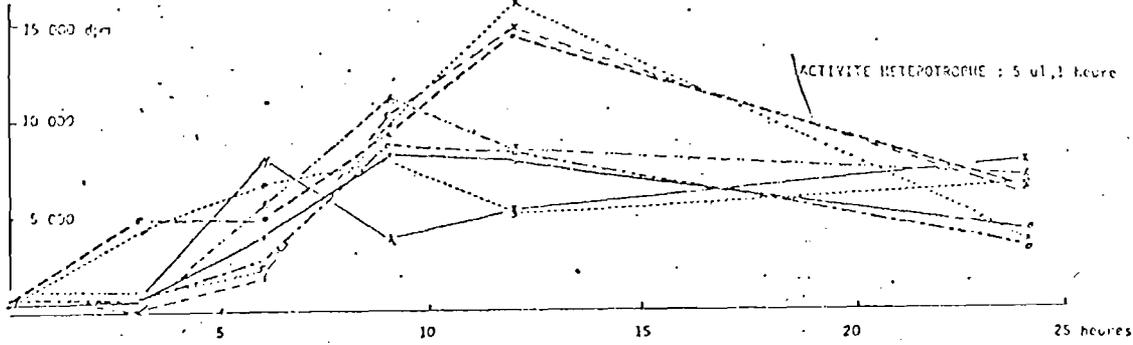
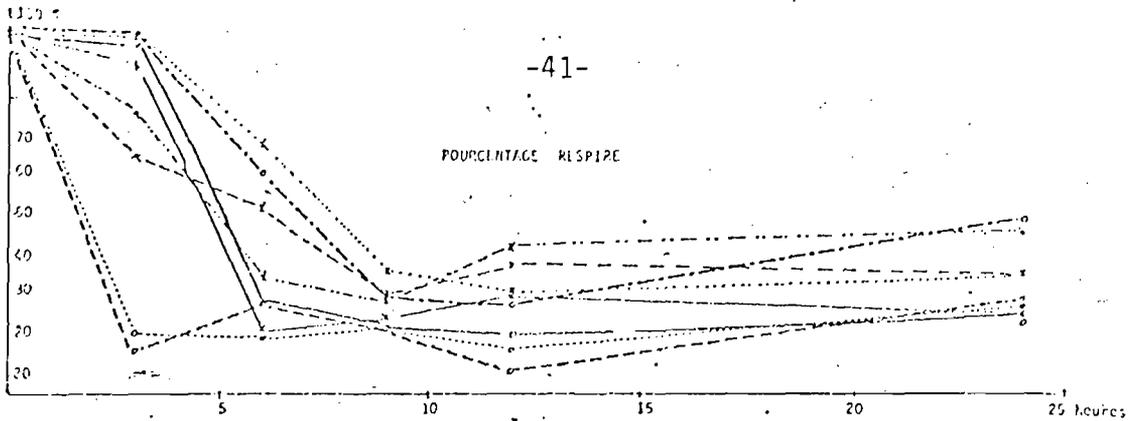
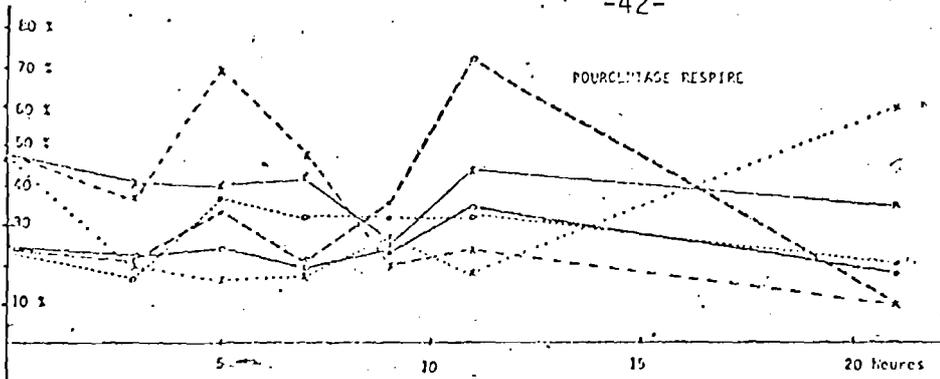


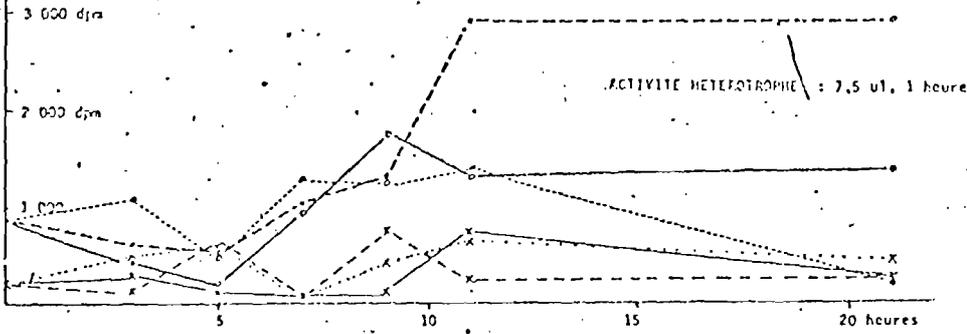
FIGURE 6
 Activité
 hétérotrophe sur
 acides aminés et
 sur glucose, à trois
 concentrations
 différentes

SEPTEMBRE

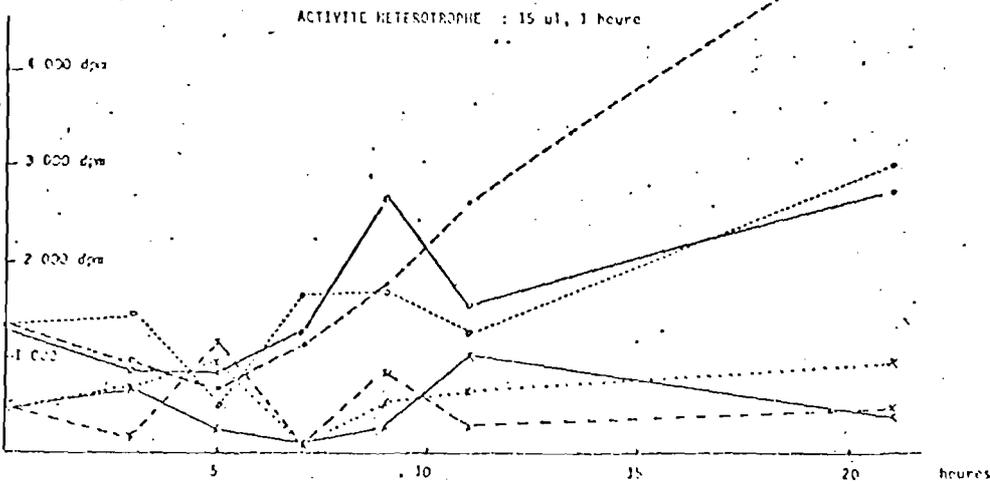
- | | |
|--|------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> —●— bac. <i>Arabin</i> - - - - - bac. <i>B14</i> - . - . - bac. acides aminés - - - - - bac. gélatine | } activité sur ACIDES AMINES |
| <ul style="list-style-type: none"> —●— bac. <i>Arabin</i> - - - - - bac. <i>B14</i> - . - . - bac. acides aminés - - - - - bac. gélatine | } activité sur GLUCOSE |



7B



7A



7A

Y ——— Y bac thioin } HETEROTROPHIE SUR
 X X Lac NH₄ } ACIDES AMINES
 K - - - - K bac AA }
 O ——— O BAC TENDIN } HETEROTROPHIE SUR
 ● ● BAC NH₄ } GLUCOSE
 ○ - - - - ○ BAC AA }

7A

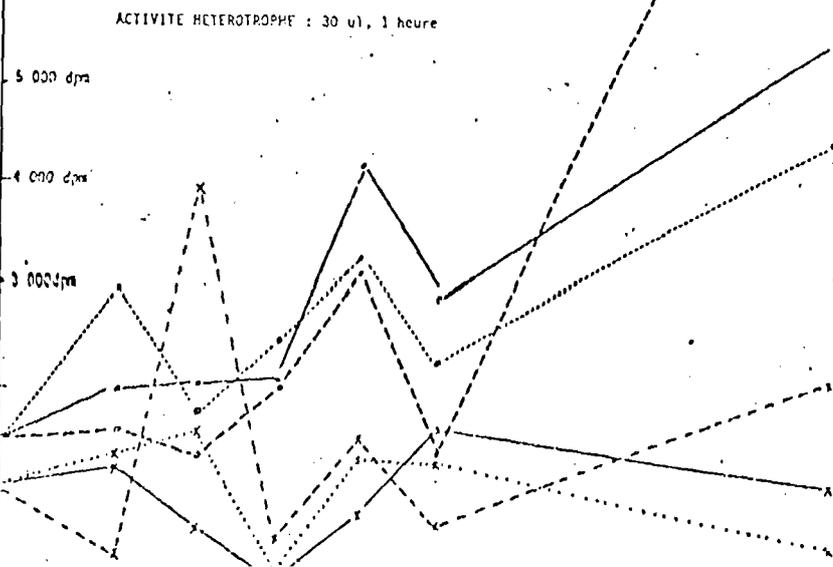


FIGURE 7 A : Activité hétérotrophe sur acides aminés et sur glucose, à trois concentrations différentes
FEVRIER

FIGURE 7 B : Pourcentages de respiration, sur acides aminés et sur glucose

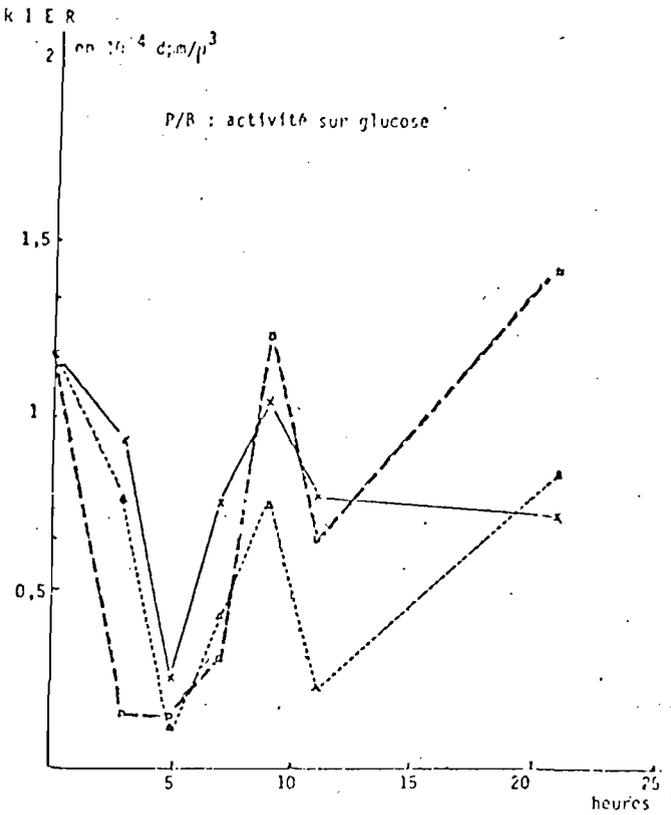
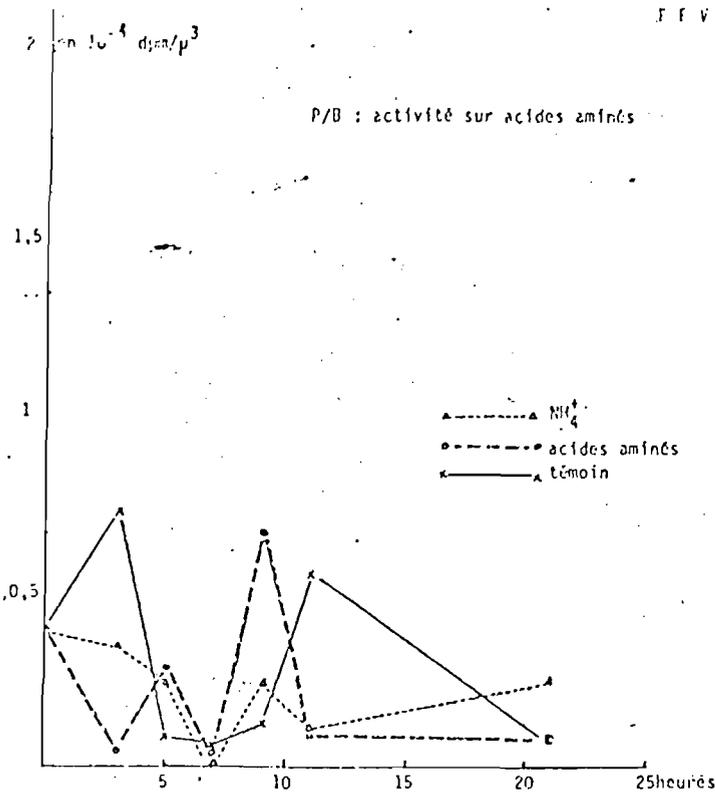


FIGURE 8A : Février, mesures de P/B, sur acides aminés et glucose

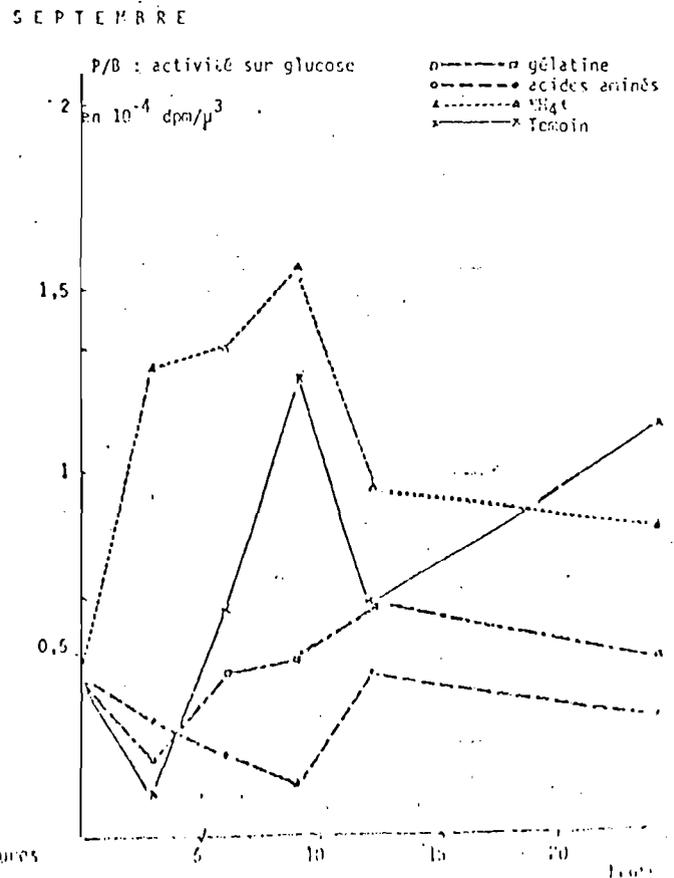
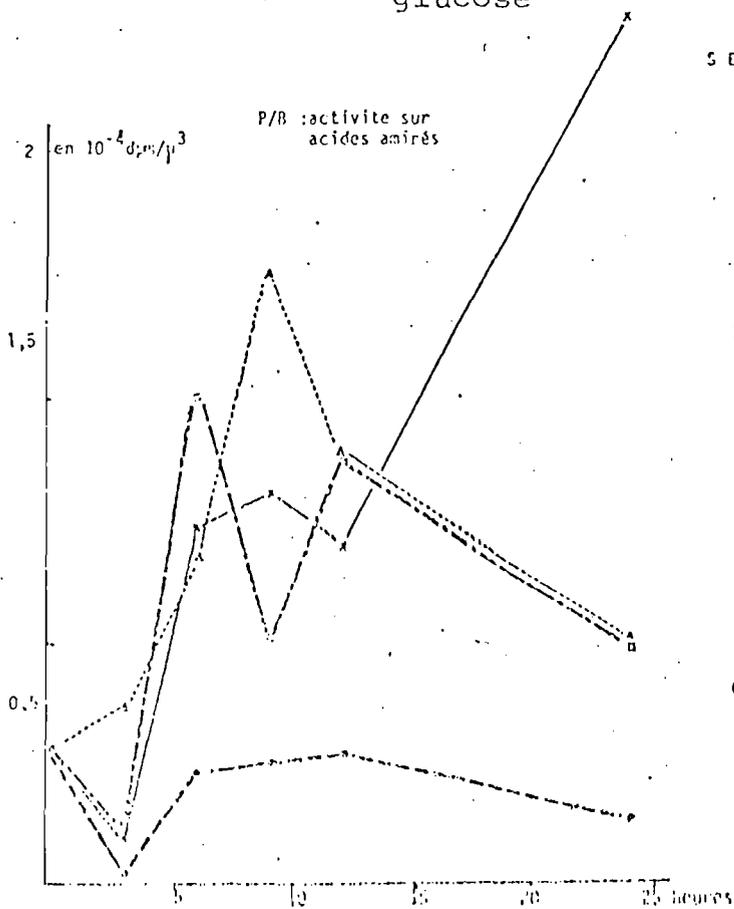


FIGURE 8B : Septembre, mesures de P/B, sur acides aminés et sur glucose

Ce paramètre doit être étudié dans de meilleures conditions expérimentales. En effet, bien qu'en février les conditions de mesure de vitesse initiale (moins de 10% de substrat utilisé) soient correctes, on a observé, aussi bien qu'en septembre des cinétiques $t/f = f(A)$ non linéaires. Le faible nombre de données par cinétique (3 seulement), ne permet pas de les interpréter. On peut simplement constater que la variation de la vitesse en fonction de la concentration en substrat n'est pas toujours dans le même sens :

- il peut y avoir des ralentissements de cette vitesse (mise en jeu d'autres mécanismes biochimiques adaptés à des concentrations extracellulaires élevées de substrat).

Par ailleurs, les mesures d'activité sont faibles pour les concentrations identiques pour tous les bacs (0,5 à 1Mg/l de glucose et d'acide aminés). Or cet apport de carbone peut représenter une source de carbone totalement assimilable et importante pour le bac NH_4 qui n'est soumis qu'à un enrichissement en azote. Par contre, les traceurs radioactifs sont en compétition, en ce qui concerne l'assimilation, avec les substrats carbonés déjà présents dans les bacs AA et Gélatine. Ce phénomène de dilution peut expliquer les fortes valeurs de P/B enregistrées pour le bac NH_4^+ , par rapport aux faibles valeurs des bacs gélatine et Acides Aminés.

La présence de cellules mortes non encore lysées, ou en état de faible activité, peut très fortement modifier la valeur de la charge énergétique, et masquer certains résultats

Dans le bac AA, à T 12, l'impact global d'un faible pourcentage de cellules en état de faible activité peut être mis en évidence.

À T 12, sur 100 bactéries 5 d'entre elles font 14 m^3 et sont en état de faible activité (CE estimée pour 0,3). Toutes les autres bactéries (95) ont une biomasse moyenne de 0,6 m^3 et sont en état de forte activité (charge énergétique estimée de 0,8). Les concentrations en ATP sont calculées à l'aide des formules suivantes à partir du volume en m^3 .

-calcul du poids humide PH : $PH = V (m^3) \times (1,1 \cdot 10^{-9} \text{ g}/m^3)$

-calcul du carbone cellulaire : $C = 0,433$

-calcul de l'équivalent ATP : $ATP = C/250$

En simplifiant la formule de la charge énergétique, on obtient une approximation de cette dernière en écrivant $C E = ATP/AMP$. Cette égalité suppose l'ADP constant et sous-estime les quantités d'AMP réellement présentes.

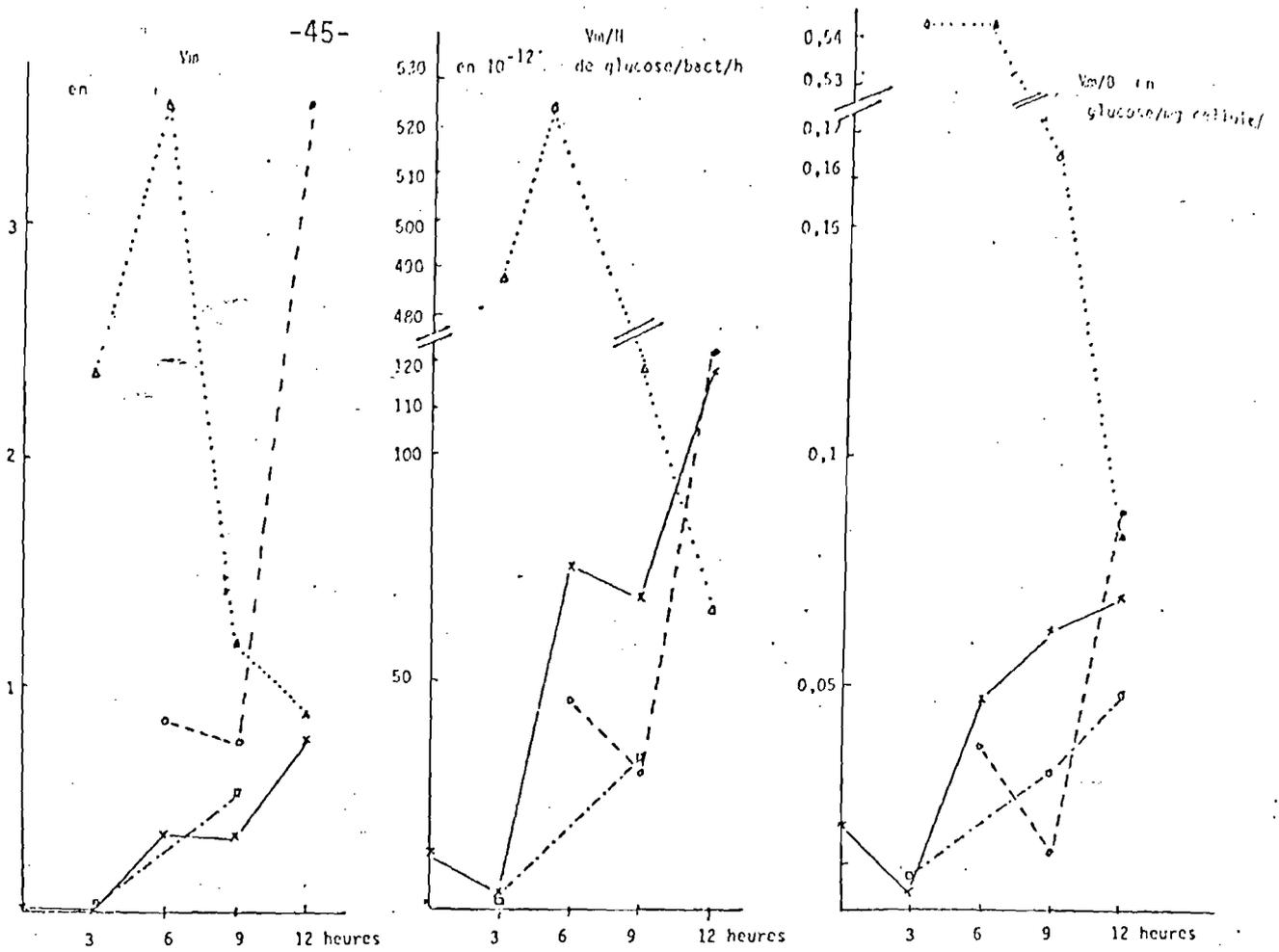


FIGURE 9A : Septembre , Mesures de V_m , V_m/N , V_m/B (uptake du glucose)

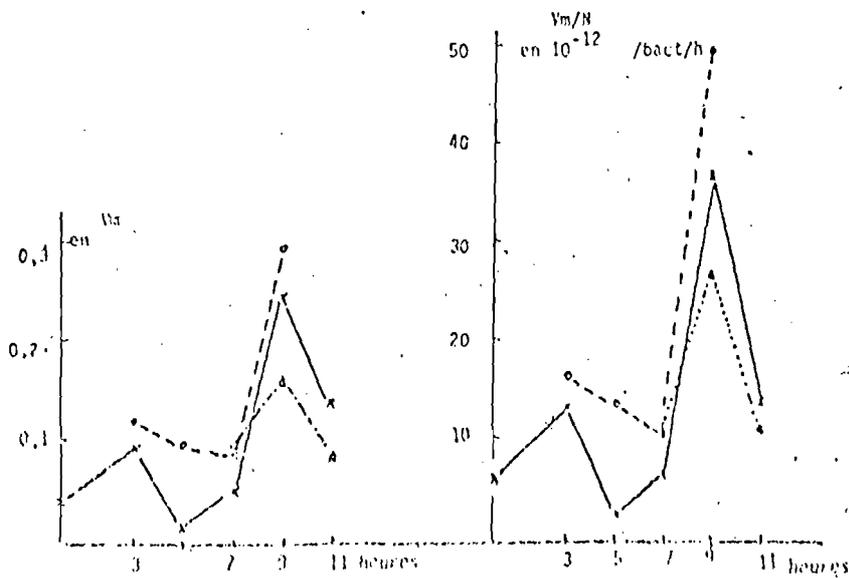


FIGURE 9B : Février mesures de V_m et de V_m/N (uptake de glucose)

A partir des valeurs de charge énergétique, on en déduit les AMP provenant des deux fractions de la communauté bactérienne. Le rapport

$$\frac{\text{AMP des cellules actives}}{\text{AMP des cellules inactives}} \text{ est de } 31\%.$$

Par conséquent, 69% de l'AMP dosé provient de 5% de cellules en état de faible activité. Ceci explique en partie la libération massive d'AMP lors de cette expérience de Septembre, mais n'explique pas que celle-ci soit immédiate pour le bac AA.

On peut, d'autre part, mettre en évidence dans les différents bacs enrichis en azote organique, une succession de pics. De 0 à 6 heures, on constate un pic d'ATP caractérisant la phase de latence, ce qui a déjà été relevé chez le phytoplancton (ROMANA, 1976). Ensuite, un pic d'activité hétérotrophe (T 6), puis un pic de biomasse (T 9) et enfin un pic de numération (T 24). De même, un pic d'ATP précède, de façon moins importante, à T 12, le pic de petites cellules (maximum à T 24). Ceci peut correspondre à la mise en place du contenu cellulaire bactérien qui se prépare à utiliser les substrats nouveaux extra-cellulaires (réplication, transcription, mise en jeu massive des ribosomes). Toutes ces opérations se font par des réactions enzymatiques endergoniques nécessitant beaucoup d'ATP.

Le pic d'activité cellulaire peut correspondre, de plus, à l'utilisation importante de substrat extra cellulaire. Ces opérations réalisées, l'augmentation de biomasse peut avoir lieu, puis c'est l'installation plus tardive des petites cellules.

CONCLUSION

L'utilisation de plusieurs procédés d'étude bien différenciés, permet de mettre en évidence l'opposition d'évolution des deux communautés hivernales et automnales.

En septembre, la communauté réagit très rapidement après l'enrichissement en azote. Une augmentation de biomasse en phase exponentielle suivie d'une lyse rapide des cellules bactériennes, est accompagnée d'une diminution de la diversité. L'évolution qualitative de la communauté bactérienne dénote une succession d'espèces aptes à profiter rapidement d'un enrichissement du milieu. Les autres composants de la communauté bactérienne, incapables de profiter de cet enrichissement, sont en état de faible activité. Par conséquent, les taux d'AMP sont toujours supérieurs à ceux d'ATP présents dans les bacs.

Par contre, en février, la communauté ne réagit pas numériquement à l'enrichissement en azote. Tout au long des 24 heures, les pourcentages de respiration et l'activité hétérotrophe et les taux d'ATP (toujours supérieurs à ceux d'AMP) restent élevés; ce qui montre une forte activité d'entretien de la communauté. Cependant cette communauté modifie son équilibre qualitatif vers un autre état plus adapté aux conditions extérieures (bacs Acides Aminés et NH_4).

De part leur nombre et leur diversité, les deux communautés hivernales et automnales présentent un état similaire si l'on se contente d'une simple observation ponctuelle.

La différence de réactivité de ces deux communautés n'apparaît que par expérimentation : en appliquant un stress défini (enrichissement en azote) dans une masse d'eau délimitée (utilisation de bacs), en procédant à court terme avec des pas d'échantillonnage serrés, et en utilisant une diversité de paramètres descriptifs.

En automne l'ampleur et la rapidité de réponse de la communauté confirme son aptitude à profiter des conditions créées par une crise dystrophique, et éventuellement à l'accentuer.

En février, la communauté, numériquement et de par son comportement, ne réagit pas à l'enrichissement en azote. Les taux d'ATP supérieurs à ceux d'AMP confirment la stabilité en un état diversifié de cette communauté

Cette étude de la réactivité microbienne au stress les plus fréquents fournit des renseignements permettant de prévoir et d'éviter de développement d'états de crise entraînant les phénomènes de mortalité massive dans les zones d'aquiculture.

