

Les acides aminés libres, reflet de l'activité bactérienne dans les contenus digestifs des holothuries : différence entre zones abyssale et littorale

Patrick ALBÉRIC, Jean-Pierre FÉRAL et Myriam SIBUET

Résumé — Les contenus digestifs des holothuries ont des compositions en acides aminés libres différentes en zone abyssale et en zone littorale. Les différences significatives portent sur les acides glutamique et diaminopimélique et sont interprétées comme le reflet d'une prolifération bactérienne particulière au tractus digestif des holothuries abyssales.

Bacterial activity inferred from free amino acids in gut contents of holothurians: difference between abyssal and littoral zones

Abstract — An important turnover of organic matter occurs at the deep sea sediment-water interface, since more than 90% of the sedimentary organic carbon escape burying ([1], [2]). The role played by micro-organisms and by the others members of the benthic community is not clearly understood ([2] to [6]). Holothurians are one of the major groups, of the deposit-feeding benthic megafauna ([7], [8]). In the abyssal zone their digestive tract seemed to be the place of an important bacterial proliferation ([9] to [11]) which is not observed with littoral specimens [12].

Free amino acids in gut contents reflect that situation.

Glutamic acid is the major free amino acid in interstitial water of marine sediments, probably in relationship with the amino acid pool of bacteria ([13] to [17]).

In the gut contents of abyssal holothurians, glutamic acid is largely predominant all along the digestive tract. Total amino acid concentrations are relatively high compared to the surrounding sediment or the gut content of littoral specimens.

For littoral species, glutamic acid is only predominant in the sediment just ingested or just to be expeled, as well as in the feces and the surrounding sediment. Digestive functions of the organisms seemed to govern the free amino acid composition in the major part of the digestive tract except at the extremities.

For abyssal specimens, the amino acid composition would be related to the bacterial amino acid pool all along the digestive tract. Furthermore, significant quantities of free diaminopimelic acid (0.3 $\mu\text{mol/g}$) are found in gut contents of abyssal specimens only. This is thought to be linked to the occurrence of an important bacterial cell division in the digestive tract of abyssal holothurians.

INTRODUCTION. — Les organismes détritivores jouent un rôle important dans le recyclage de la matière organique à la surface des sédiments; directement par leur métabolisme et indirectement en perturbant le sédiment superficiel, perpétuant ainsi des conditions favorables aux micro-organismes aérobies.

Les holothuries représentent l'un des groupes benthiques dominant dont la biomasse, en milieu littoral et en milieu abyssal, est significative ([7], [8]). La morphologie de leur tube digestif permet une étude suivie de la dégradation de la matière organique à l'interface eau-sédiment ([18] à [22]).

Dans cette Note, nous cherchons à interpréter les différences de composition en acides aminés libres que l'on observe dans les contenus digestifs des holothuries abyssales et littorales.

Il est mal aisé d'établir des comparaisons entre des spécimens d'espèces différentes, prélevés dans des milieux dont le degré d'hétérogénéité, la nature du sédiment et celle des apports organiques sont très différents. La composition en acides aminés libres des sédiments semble une donnée susceptible de caractériser les processus intervenant dans les deux milieux.

Note présentée par Lucien LAUBIER.

TABLEAU

Compositions moyennes en acides aminés libres (% molaire) des échantillons regroupés en trois catégories : A. Littoral, contenus de la partie médiane du tractus (œsophage et intestin). B. Littoral, contenus antérieurs (bouche-pharynx) et postérieurs (cloaque), fèces et sédiment environnant. C. Abysses, contenus antérieurs, médians et postérieurs.

Mean amino acid compositions (mole %) of samples arranged into three groups (A, B, C) according to their abyssal or littoral origin and to their position along the digestive tract.

Éch.	Asp Thr Ser Glu Gly Ala Val Ile Leu Tyr Phe His Lys Arg DAP															Total ($\mu\text{mol/g}$)
	%															
A. . . .	9	7	10	14	10	11	9	5	10	3	5	2	3	2	0	3, -10
B. . . .	13	4	7	30	13	11	5	3	5	1	1	1	2	2	0	0,2- 1
C. . . .	10	5	7	31	9	12	5	4	4	1	3	1	3	2	2	2, -30

MATÉRIEL ET MÉTHODE. — Les spécimens littoraux (*Holothuria tubulosa* et *Holothuria polii*) ont été récoltés en juillet 1984 dans la rade de Hyères à 3-4 m de profondeur et en novembre 1984 à Banyuls-sur-mer (10-12 m de profondeur) où les fèces des organismes et le sédiment sableux environnant ont également été prélevés (C.N.R.S., A.T.P. réseaux trophiques marins, n° 981023).

Les spécimens abyssaux proviennent de la plaine de Demerara (océan Atlantique équatorial, profondeur 4800 m, campagne Demeraby, IFREMER, [1]), il s'agit de *Deima validum* et de *Pseudostichopus villosus*. Les résultats les concernant ont été publiés précédemment [21].

Suivant les spécimens, les contenus digestifs ont été prélevés dans quatre ou cinq segments du tube digestif ([18], [19]).

Les acides aminés libres ont été extraits par quelques millilitres d'eau bidistillée (environ deux fois 1 ml pour 100 mg). Après centrifugation et filtration les solutions ont été évaporées (40°C, sous vide) et les sels repris par 500 μl de tampon citrate de sodium (pH 2,2).

Les résultats présentés concernent l'étude de six spécimens (deux par site).

Uniquement basée sur l'identité des temps de rétention, la détermination des acides aminés peu communs est parfois incertaine. Dans le cas de l'acide diaminopimélique (DAP), le produit de la réaction avec la ninhydrine présente en milieu acide une couleur vert-jaune caractéristique [23]. Dans les conditions habituelles d'analyse (réactif à la ninhydrine à pH 5,5) le rapport des absorptions à 570 nm et à 440 nm est environ 4 pour le DAP et environ 10 pour la plupart des acides aminés. En utilisant un réactif à la ninhydrine à pH 1,5 il est possible de supprimer totalement l'absorption à 570 nm de tous les acides aminés et de ne conserver que l'absorption à 440 nm du DAP et des prolines. Dans les conditions utilisées, le DAP est élué après la valine.

RÉSULTATS. — Pour la majorité des spécimens étudiés la teneur en acides aminés (aa) libres du contenu intestinal augmente entre la partie antérieure (bouche et pharynx) et la partie médiane du tube digestif (œsophage, anses 1 et 2) pour diminuer ensuite (cloaque). Cette variation est commune à toutes les espèces et est conforme à la variation connue des teneurs en composés hydrosolubles (protides, glucides) le long du tractus des holothuries ([18], [21], [22]).

Les échantillons littoraux ont des teneurs en aa libres comprises entre 0, 2 et 10 $\mu\text{moles/g}$ dans les contenus intestinaux et proches de 0,3 $\mu\text{moles/g}$ dans les fèces et le sédiment environnant (Banyuls).

En milieu abyssal les teneurs varient entre 2 et 30 $\mu\text{moles/g}$ dans les contenus intestinaux.

Les échantillons littoraux étudiés se répartissent en deux catégories suivant leur composition en aa libres :

1. Les segments médians du tube digestif (y compris l'œsophage) où la plupart des aa sont présents dans les mêmes proportions (tableau, éch. A).

2. Les segments antérieurs (pharynx) et postérieurs (cloaque), les fèces et le sédiment environnant dont la composition est caractérisée par la prédominance de l'acide glutamique (tableau, éch. B). Ces échantillons sont ceux qui présentent les plus faibles teneurs en aa libres.

En milieu abyssal l'acide glutamique est le composé largement prédominant tout le long du tube digestif, y compris dans sa partie médiane (tableau, éch. C). Par ailleurs, des quantités notables de DAP (0,02-0,3 μ moles/g) y sont détectées, contrairement aux échantillons littoraux.

DISCUSSION-CONCLUSION. — Que cela soit en zone littorale ou abyssale, il apparaît que le sédiment ingéré par les holothuries est plus riche en matière organique et en bactéries que le sédiment environnant ([8] à [11], [18] à [22]). Dans le tractus, au cours du transit, on note en général une diminution du nombre de bactéries et de la teneur en matière organique du sédiment, en réponse à l'action des fonctions digestives de l'hôte. Le contenu du segment terminal, prêt à être expulsé, demeure cependant plus riche que le sédiment environnant, particulièrement en milieu abyssal.

L'activité métabolique des holothuries semble avoir la même incidence vis-à-vis de la dégradation de la matière organique en milieu littoral et en milieu abyssal. Les processus mis en jeu pourraient cependant différer en partie.

La détermination de la structure des communautés bactériennes associées au contenu du tractus digestif des holothuries abyssales montre qu'il existe une prolifération bactérienne sélective dans le sédiment ingéré qui se poursuit le long du tractus en se diversifiant suivant les segments ([10], [11]).

La flore entérique des holothuries littorales semble avoir été moins étudiée. Les résultats préliminaires de l'étude microbiologique menée sur les échantillons prélevés à Banyuls [12] indiquent une variation très irrégulière des concentrations bactériennes le long du tractus. Le bouleversement quasi total de la structure de la communauté bactérienne qui est observé dans certains cas traduirait plus l'hétérogénéité des microflores associées à des prises de nourriture consécutives, qu'une réelle évolution de la microflore pendant le transit.

La composition en aa libres de l'eau interstitielle des sédiments marins est le plus souvent dominée par l'acide glutamique (Glu) ([13] à [16]). Ce composé est également prépondérant dans le « pool » d'aa libres des bactéries marines ([15], [17]). Bien que les aa intracellulaires des bactéries ne représentent qu'une faible part de la quantité totale des aa libres des sédiments [16], la prédominance de Glu y est considérée d'origine bactérienne ([13] à [15]).

Dans cette hypothèse, l'opposition notée précédemment entre les compositions en aa libres des contenus digestifs des holothuries abyssales et littorales peut être interprétée de la manière suivante :

En zone littorale, la prépondérance de Glu dans le sédiment environnant est le reflet de l'activité bactérienne libre disséminée dans le sédiment. Cette activité caractérise également le sédiment tout juste ingéré, celui prêt à être expulsé et les fèces.

En revanche, dans la partie médiane du tractus (y compris l'œsophage) où la fonction digestive prédomine, la composition en aa libres observée résulterait de l'hydrolyse de la matière organique ingérée (bactéries comprises). La reprise de l'activité bactérienne dans l'intestin postérieur serait responsable de la réapparition de la prédominance de l'acide glutamique.

En zone abyssale, la prépondérance de Glu observée tout le long du tractus refléterait une activité bactérienne ininterrompue, relativement importante si l'on en juge d'après les teneurs en glutamate. En ce qui concerne le DAP (constituant du mucopolysaccharide de la paroi bactérienne), la seule lyse des parois bactériennes ingérées ne suffit pas à expliquer les quantités observées dans les contenus intestinaux tout le long du tractus [21]. La

synthèse des constituants de la paroi bactérienne consécutive au renouvellement répété de la flore antérieure au cours du transit [11] est en revanche tout à fait susceptible d'en rendre compte. Les phases de multiplication cellulaire sont en effet propices à la libération dans le milieu de quantités notables de DAP sous forme libre [24].

Ce phénomène de prolifération bactérienne dans les tractus des holothuries abyssales peut être considéré comme une adaptation au milieu oligotrophe [11].

L'analyse des aa libres semble pouvoir fournir un indice de l'activité *in situ* des bactéries dans les tractus.

Note reçue le 18 mai 1987, acceptée le 25 mai 1987.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] M. SIBUET, C. MONNIOT, D. DESBRUYÈRES, A. DINET, A. KHRIPOUNOFF, G. ROWE et M. SEGONZAC, *Oceanol. Acta*, 7, 1984, p. 345-358.
- [2] A. KHRIPOUNOFF et G. T. ROWE, *Oceanol. Acta*, 8, 1985, p. 293-301.
- [3] K. L. SMITH Jr et G. A. WHITE, in *The Environment of the Deep Sea*, 11, 1985, p. 279-300.
- [4] H. W. JANNASCH et C. D. TAYLOR, *Ann. Rev. Microbiol.*, 38, 1984, p. 487-514.
- [5] G. T. ROWE et J. W. DEMING, *J. Mar. Research.*, 43, 1985, p. 925-950.
- [6] G. CAHET et M. SIBUET, *Mar. Biol.*, 90, 1986, p. 307-315.
- [7] M. SIBUET et J. M. LAWRENCE, *Mar. Biol.*, 65, 1981, p. 143-147.
- [8] J. P. FÉRAL, *Thèse d'État*, Université Paris-VI/M.N.H.N., 1985.
- [9] J. W. DEMING et R. R. COLWELL, *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 1982, p. 1222-1230.
- [10] M. BENSOUSSAN, *Thèse d'État*, Université de Provence, Marseille, 1982.
- [11] C. RALJAONA, *Thèse de 3^e cycle*, Université de Provence, Marseille, 1983.
- [12] A. BIANCHI, J. GARCIN et F. CAUVIN, A.T.P.-C.N.R.S. Réseaux Tropiques Benthiques, Rapport final, 1986.
- [13] G. C. STEPHENS, in J. W. CAMPBELL et L. GOLDSTEIN éd., *Nitrogen Metabolism and the Environment*, Academic Press, Londres, 1970, p. 155-184.
- [14] S. M. HENRISCH, J. W. FARRINGTON et C. LEE, *Limnol. Oceanogr.*, 29, 1984, p. 20-34.
- [15] S. M. HENRISCHS et J. W. FARRINGTON, in A. G. DOUGLAS et J. R. MAXWELL éd., *Advances in Organic Geochemistry*, Pergamon Press, Oxford, 1981, p. 435-443.
- [16] N. O. G. JORGENSEN, P. LINDROTH et K. MOPPER, *Oceanol. Acta*, 4, 1981, p. 465-474.
- [17] J. T. HOLDEN, in J. T. HOLDEN éd., *Amino Acid Pools*, Elsevier, Londres, 1962, p. 73-108.
- [18] A. KHRIPOUNOFF et M. SIBUET, *Mar. Biol.*, 60, 1980, p. 17-26.
- [19] J. P. FÉRAL et C. MASSIN, in M. JANGOUX et J. M. LAWRENCE éd., *Echinoderm Nutrition*, Balkema, Rotterdam, 1982, p. 191-212.
- [20] C. MASSIN, in *Echinoderms: Present and Past, Proceeding of the European Colloquium on Echinoderms*, Brussels, Balkema, Rotterdam, 1980, p. 205-208.
- [21] P. ALBÈRIC et A. KHRIPOUNOFF, *Mar. Chem.*, 14, 1984, p. 379-394.
- [22] M. SIBUET, *Oceanis*, 10, 1984, p. 623-639.
- [23] J. P. GREENSTEIN et M. WINITZ, *Chemistry of the Amino Acids*, 3, Wiley, New York, 1961, p. 2515.
- [24] J. MAUCK, L. CHAN et L. GLASER, *J. Biol. Chem.*, 246, 1971, p. 1820-1827.

P. A. : Laboratoire de Géochimie organique et Biogéochimie,
C.N.R.S., U.A. n° 724, Université d'Orléans, 45067 Orléans;

J.-P. F. : Laboratoire de Biologie des Invertébrés marins et Malacologie,
U.A. C.N.R.S. n° 699, M.N.H.N., 55, rue de Buffon, 75005 Paris;

M. S. : IFREMER, Centre de Brest, B.P. n° 337, 29273 Brest.