

6

**TRANSFERTS D'ACIDES AMINÉS DANS UN SYSTEME EAU-SEDIMENT :
ÉTUDE PRELIMINAIRE EN MILIEU EXPÉRIMENTAL**

M.N. HERMIN, R.A. DAUMAS et N. DROGUE.

Laboratoire d'écologie et biochimie bactérienne du milieu marin

Université de Provence, 3 place Victor-Hugo, 13331 MARSEILLE Cedex 3 (FRANCE)

RESUMÉ - L'activité bactérienne du sédiment superficiel a été évaluée en utilisant un mélange de ^{14}C -amino-acides. Les mesures de ^{14}C - CO_2 respiré, des ^{14}C -A.A. par CLHP couplée avec un détecteur de radioactivité, nous ont fourni des renseignements sur l'utilisation des A.A. libres dissous par les bactéries et sur le transfert des A.A. de l'eau vers le sédiment. L'adsorption des A.A. par les particules minérales est responsable du transfert dans le sédiment de la moitié des A.A. pendant les dix premières minutes. L'incorporation de ^{14}C -A.A. dans la fraction organique non hydrolysable du sédiment a été mise en évidence dès le début de l'expérimentation. Les A.A. dicarboxyliques sont résistants à l'attaque bactérienne et moins adsorbés que les autres A.A. ; l'arginine est totalement dégradée en 10 minutes.

Mots clés : sédiment marin, acides aminés, bactéries, assimilation, H.P.L.C.

ABSTRACT - The bacterial activity of the superficial sediment layer was evaluated by incorporation ^{14}C -labelled amino-acids mixed an hydrolysate of chlorella cells. Estimation of ^{14}C - CO_2 and ^{14}C -A.A. by H.P.L.C. give some informations on the utilization of free dissolved A.A. and on the transport of labelled compounds from water to sediment. The adsorption mechanism of A.A. on the mineral particles draw to the sediment a large part of A.A. in the first period ; but 28% of this adsorbed A.A. were discharged by an acid treatment. A part of ^{14}C -A.A. was incorporated in unhydrolysable organic matter. Di-COOH A.A. are more resistant to bacterial degradation than the other A.A., but arginine is completely metabolized in ten minutes.

Key words : marine sediment, amino-acids, bacteria, assimilation, H.P.L.C.

INTRODUCTION

La zone côtière caractérisée par une hauteur d'eau relativement faible constitue un système interdépendant entre la production de matière organique dans la phase aqueuse et la régénération des sels nutritifs dans la couche sédimentaire (Rowe *et al*, 1975). Le cycle biogéochimique constitué par ce système peut fonctionner grâce à l'activité bactérienne présente au niveau du fond ; elle est responsable notamment de la dépolymérisation de la matière organique complexe en monomères directement utilisables (amino-acides, glucides simples).

La richesse en bactéries du sédiment décroît très rapidement avec l'enfouissement, ce qui conduit à considérer la couche superficielle comme le lieu principal du métabolisme bactérien et notamment de l'assimilation des monomères organiques par les bactéries (Meyer-Reil, 1978 ; Bianchi, 1979). L'évaluation de l'activité hétérotrophe peut être déduite de l'activité respiratoire (O_2 consommé - CO_2 dégagé) ou, plus généralement, de la mesure du métabolisme par microcalorimétrie (Pamatmat *et al*, 1981), ou encore de

l'incorporation par les bactéries d'une molécule organique marquée (Wright et Hobbie, 1966). Le choix du substrat marqué demeure l'objet de controverses nombreuses sans que l'on ait pu dégager quelques principes généraux pour la sélection d'une molécule représentative de l'activité bactérienne. Si les premiers travaux ont porté sur le glucose, on a par la suite employé fréquemment les amino-acides : acide glutamique, alanine, glycine, pour évaluer l'activité hétérotrophe des microorganismes. Il s'avère toutefois que l'étude de l'activité bactérienne au niveau de la couche superficielle du sédiment doit prendre en compte deux notions :

- en ce qui concerne le choix du substrat marqué, il faut considérer que la matière organique arrivant au niveau du fond est constituée soit de matériel fraîchement sédimenté et donc intact, soit de matériel sédimenté depuis plus longtemps et de ce fait ayant déjà subi une dégradation importante (Daumas, 1984). Dans ce cas, la fraction protéique, très labile, va subir une attaque rapide par les exo-enzymes bactériennes pour libérer les amino-acides.

- la présence d'un support minéral recouvert en partie d'un film organique (Johnson, 1974) confère à ce matériau un pouvoir adsorbant vis-à-vis des molécules organiques (Talibudeen, 1955 ; Verma *et al*, 1975 ; Stotsky, 1980). En conséquence, il faut prendre en considération la fraction de substrat susceptible d'être adsorbée sur le minéral et surtout d'en connaître la disponibilité pour les bactéries.

Dans une étude en milieu anaérobie, Christensen et Blackburn (1980) ont montré que la fixation de ^{14}C -alanine par le substrat peut atteindre 30% en 60 minutes mais ils n'apportent aucune information sur l'utilisation possible de la fraction adsorbée par les bactéries. La notion d'adsorption sur le substrat minéral a été abordée au cours d'une étude *in vitro* sur un "interface eau-sédiment" simulé et utilisant comme substrat un mélange d'acides aminés (A.A.) marqués au ^{14}C correspondant à l'hydrolysate de cellules de chlorelle.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'activité bactérienne se situe principalement dans la couche superficielle du sédiment, elle s'adresse à des monomères représentés entre autre par des A.A. libres. La difficulté d'expérimentation à ce niveau réside surtout dans l'impossibilité d'isoler le film superficiel du sédiment avec sa population bactérienne (épaisseur : 1mm) pour le mettre en contact avec les A.A. en solution. Toutefois, on peut noter que le film superficiel est constitué par du matériel colloïdal et des particules de très petites tailles, susceptibles de se remettre en suspension à la moindre agitation et d'y demeurer pendant des périodes relativement longues. Il est probable que les bactéries sont, en grande partie, fixées sur ces particules comme le montrent les numérations (par microscopie à épifluorescence) faites sur l'eau et le sédiment. L'étude de l'activité bactérienne dans la couche superficielle du sédiment peut être abordée de deux manières :

- soit par injection de la molécule marquée dans une carotte de sédiment prélevée en un lieu choisi et maintenue dans des conditions proches du milieu naturel. Dans cette technique, l'intégralité de la couche superficielle du sédiment est maintenue avec la présence d'organismes de la méiofaune et de la macrofaune. Par contre, il est difficile de penser à une répartition homogène de ces organismes et des débris organiques compte tenu de la taille relativement faible de la carotte (4 à 5 cm de diamètre).

- soit par injection de la molécule marquée dans un système eau-sédiment reconstitué à partir d'un sédiment tamisé étalé en couche mince recouvert d'une couche d'eau filtrée ou non. Ce système s'écarte beaucoup du milieu naturel, il présente l'avantage d'être homogène et simplifié, notamment par l'élimination du macrobenthos et des débris organiques.

En outre, ce système offre l'avantage de permettre une distribution régulière du marqueur radioactif. Celui-ci, mis en solution dans l'eau, va subir une diffusion progressive vers le sédiment sans création de zones d'accumulation. A l'inverse, dans la technique précédente, l'injection de la molécule marquée est opérée ponctuellement créant ainsi une répartition hétérogène du traceur.

Ces remarques nous ont conduits à choisir la méthode de l'interface reconstitué qui correspond mieux aux objectifs fixés : distribution d'un hydrolysat de protéines dans un système eau-sédiment et utilisation par les bactéries des A. A. libres. L'expérimentation a été réalisée selon le protocole ci-dessous :

- le prélèvement de la couche superficielle (épaisseur = 2 cm) d'un sédiment côtier (Port-Saint-Louis du Rhône) est tamisé pour enlever les débris et les organismes de taille supérieure à 1 mm.
- le sédiment (35 ml) et l'eau sus-jacente (25 ml) sont placés dans chaque fiole d'expérimentation et agités vigoureusement ; une période de repos d'une nuit a pour effet d'entraîner une sédimentation progressive des particules en fonction de leur taille et de leur densité ; une fine pellicule apparaît à la surface du sédiment.
- après introduction du traceur radioactif dans l'eau sus-jacente, on procède à une légère agitation circulaire de la fiole, facilitant la remise en suspension du film superficiel du sédiment. La solution de ^{14}C -A.A. fournie par le C.E.A. (réf. CB 51) possède une activité spécifique de 45 mCi/mAt de C ; il s'agit d'un hydrolysat de chlorelles dont la composition est la suivante : Ala : 620 ; Arg : 270 ; Asp : 440 ; Glu : 556 ; His : 56 ; Leu : 400 ; Ile : 193 ; Phe : 198 ; Pro : 213 ; Ser : 356 ; Thr : 278 ; Tyr : 123 ; Val : 373 picomoles par microCurie.

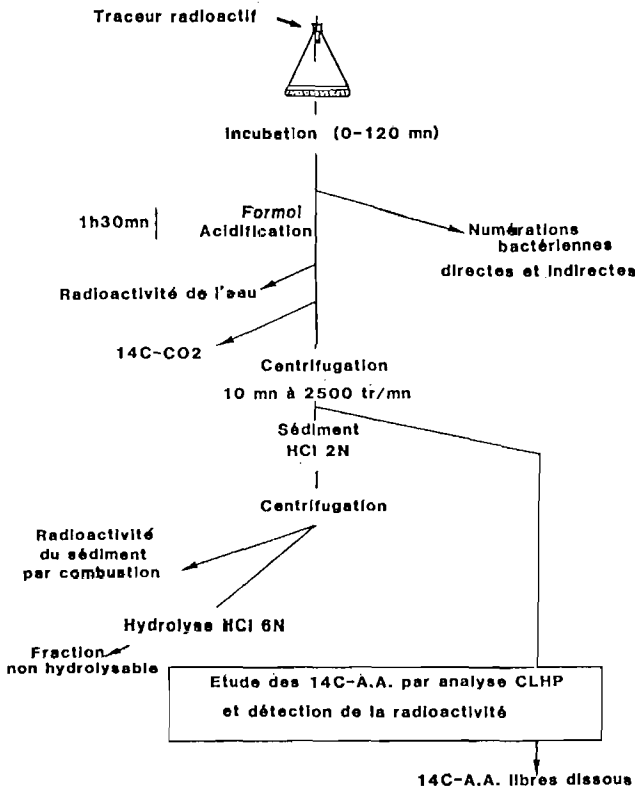


Figure 1 : Protocole expérimental

- les Erlen sont fermés au moyen de bouchons en caoutchouc. Chaque bouchon supporte, sur sa face inférieure, une coupelle dans laquelle est placé un filtre plissé en papier Whatmann. Les fioles sont groupées en 6 séries de 3 ; chaque série correspondant à une durée d'incubation : 0, 10, 30, 60, 90 et 120 minutes. L'injection de la solution de ^{14}C -A.A. marque le début de l'expérimentation (fig. 1). Après rinçage de l'aiguille par 0,5 ml d'eau distillée, 0,2 ml de phényléthylamine (piège à CO_2) sont injectés dans la coupelle porte-filtre. A l'issue de la période d'incubation, les prélèvements pour les numérations bactériennes sont effectués. Puis l'addition de 5 ml de formol neutralisé à 10% arrête le développement des microorganismes.
- l'acidification par HCl 2N provoque le dégagement du CO_2 dissous dans la phase aqueuse. Ceci permet une mesure plus juste de la partie du traceur ayant été "respirée". Les filtres sont alors prélevés et dosés (voir ci-dessous).
- le lavage du sédiment par HCl 2N (120 ml), suivi d'une centrifugation (2500 rpm pendant 10 mn), est destiné à détacher les A.A. faiblement fixés au sédiment.
- le sédiment après ce lavage subit une hydrolyse acide par HCl 6N (à 106°C pendant 24 h). Cette opération a pour but d'hydrolyser les liaisons peptidiques et de permettre le dosage des A.A. combinés.

Des témoins sont effectués à différents niveaux de ce protocole. Au temps 0 le formol est injecté avant le traceur, ceci donne un "blanc". Les phénomènes d'adsorption sont contrôlés par un témoin sans sédiment, pour connaître l'adsorption parasite due à la fiole. Ce dosage indique une adsorption négligeable de 1%. La fixation du ^{14}C - CO_2 est également testée, grâce à une solution de ^{14}C - HCO_3^- dans les conditions de l'expérience 99,6% de la radioactivité est retrouvée sur le filtre imprégné de phényléthylamine. Un autre témoin consiste à mesurer directement la radioactivité d'1 ml de la solution d'A.A. marqués, utilisée lors des expériences. On obtient 1 900 000 d.p.m.

Afin d'opérer une distinction entre les phénomènes physico-chimiques d'adsorption et l'activité biologique, nous avons bloqué le métabolisme bactérien en réalisant une opération identique mais à 0°C ; l'utilisation d'agents chimiques (antibiotiques, bactéricides) ou physiques (chaleur, rayonnement gamma) ayant sur les bactéries des effets irréversibles.

Mesure de la radioactivité

Le ^{14}C - CO_2 est piégé sur le filtre par la phényléthylamine ; ce filtre, placé dans un flacon à scintillation, est broyé dans 1 ml de méthanol afin de faciliter la dissolution du complexe CO_2 -phényléthylamine (Brown, 1979). Après addition de scintillant (PCS Amersham), les flacons sont placés à l'obscurité pendant 12 heures afin d'atténuer la chimiluminescence. Les comptages sont effectués avec un compteur Beckman LS 1800 en utilisant l'étalonnage externe pour corriger le quenching.

La mesure directe de la radioactivité du sédiment n'est pas possible en raison du quenching engendré par la fraction minérale ; pour pallier à cet inconvénient, la prise d'essai est préalablement traitée dans un analyseur de carbone (Leco IR 212). Le C organique est transformé en CO_2 alors que les autres composés volatils sont entraînés par un courant gazeux. A la sortie de l'appareil le CO_2 est récupéré par barbotage dans un mélange éthanolamine-éthyléther (2 : 8 vol/vol). La radioactivité est mesurée après addition de scintillant.

Analyse des amino-acides

Les A.A. dissous, préalablement concentrés sur résine échangeuse d'ions (Dreze *et al*, 1954), sont séparés et dosés par une technique de chromatographie en phase liquide haute performance (C.L.H.P.). Cette méthode permet de séparer les A.A. naturels et radioactifs présents dans les échantillons.

L'appareil utilisé est de type Kontron (système compact LCS 620). Il se compose de deux pompes, d'une chambre de mélange et d'un programmeur. En sortie de colonne deux détecteurs sont branchés en flux continu : un spectrofluorimètre (Kontron SFM 23/B), dont la cuve de mesure fait 20 μ l, et un détecteur de radioactivité par scintillation liquide (Kontron Flo-one DR). Un intégrateur-calculateur Delsi (Enica 10) est joint à l'ensemble pour enregistrer et intégrer les chromatogrammes.

Nous avons employé la technique de séparation de partage en polarité de phase inversée (Lindroth et Mopper, 1979). La colonne est garnie de silice greffée C 18 (Beckman Ultrasphère-ODS 4,6. 250 mm granulométrie 5 μ m). La séparation se fait par un gradient d'élution de deux solvants polaires. Le solvant A est un mélange de tétrahydrofurane, de méthanol et de tampon acétate 0,05 M à pH = 5,9 (8:192:800 vol/vol) le solvant B un mélange de méthanol et de tampon acétate 0,05 M pH = 5,9 (800:200 vol/vol) (Hogan *et al*, 1982).

Numérations bactériennes

Les numérations sont effectuées de façon directe par comptage au microscope à épifluorescence, sur des échantillons fixés au formol à 37% et filtrés sur membrane Nucléopore de porosité 0,22 μ m (Hobbie *et al*, 1977). Les bactéries hétérotrophes aérobies viables sont comptées après ensemencement sur le milieu gélosé 2216 E, à partir de dilutions de 10 en 10 (Oppenheimer et Zobbel, 1952).

RÉSULTATS

Répartition de la radioactivité entre l'eau et le sédiment

L'utilisation des A.A. par les bactéries se traduit entre autres par un dégagement de ^{14}C -CO₂ provenant de la respiration. Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation font apparaître une émission globale, à l'issue des deux heures, correspondant à 10% de la radioactivité initiale. La phase de respiration maximale se situe entre 10 et 30 minutes. Il est probable qu'un certain délai soit nécessaire entre la pénétration de l'A.A. dans la cellule et le rejet de CO₂ (dilution isotopique) (fig. 2). Ceci expliquerait le décalage entre la baisse du taux d'A.A. libres retrouvés dans la phase aqueuse et le dégagement de CO₂.

Le transfert des A.A. de l'eau vers le sédiment peut être dû soit à la sédimentation de particules, soit à la diffusion moléculaire ; toutefois cette deuxième hypothèse peut être éliminée en raison de la concentration en acides aminés libres dissous (A.A.L.D) de l'eau interstitielle qui est toujours supérieure à celle des A.A.L.D de l'eau sus-jacente. L'importance du mécanisme physique d'adsorption et de transfert du traceur vers le sédiment a été estimée à partir de l'expérimentation réalisée à 0°C. Les mesures de radioactivité du liquide sus-jacent font apparaître une baisse régulière de la radioactivité globale en fonction du temps.

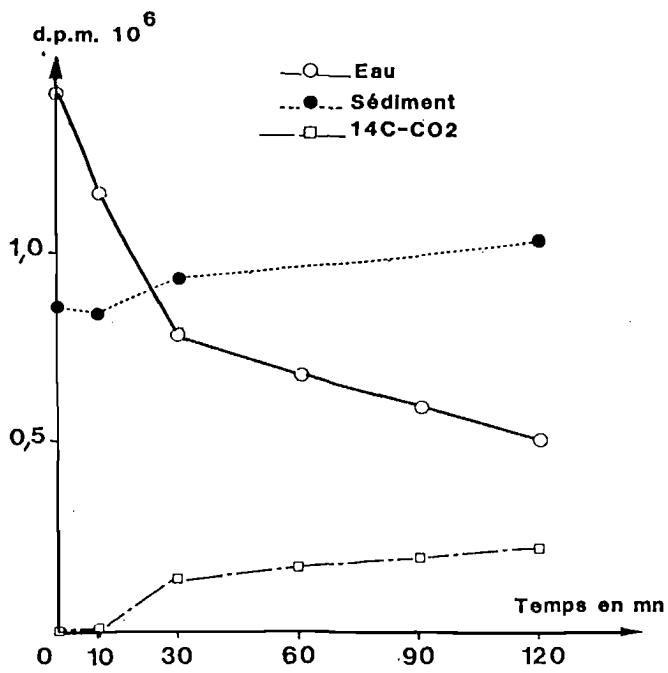


Figure 2 : Evolution de la radioactivité de l'eau, du sédiment et du $^{14}\text{C}-\text{CO}_2$ dans une fiole d'expérimentation.

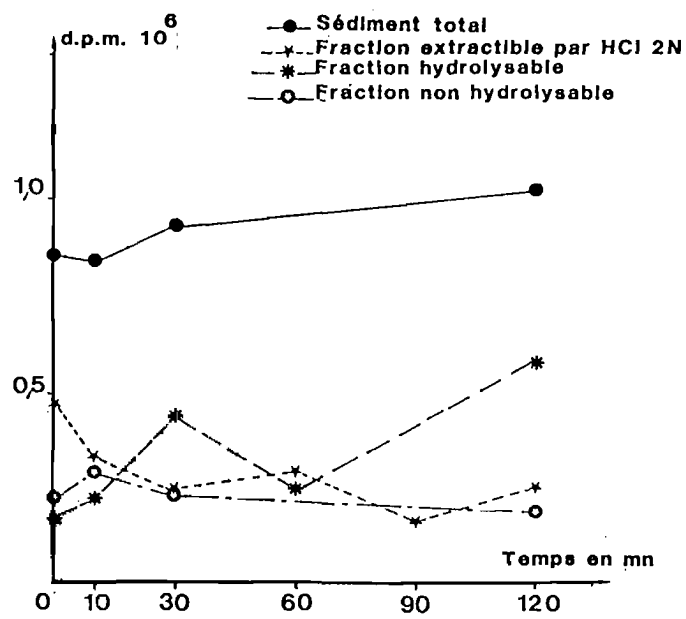


Figure 3 : Evolution de la radioactivité dans les différentes fractions du sédiment.

Les courbes de distribution de la radioactivité dans l'eau et le sédiment (fig. 2), nous renseignent sur le transfert de molécules radioactives adsorbées par les particules et entraînées à l'interface eau-sédiment. Dans cette évaluation nous devons tenir compte de la période de 90 minutes appliquée à tous les échantillons, afin de permettre le dégagement du CO₂ dissous. Pendant cette période, l'activité bactérienne a été arrêtée par le formol mais la sédimentation subsiste. Cette dernière est plus importante durant la première période (0 - 120 mn). Elle concerne près de 50% de la radioactivité initiale (soit 25 % / heure). Au-delà, le mécanisme de transfert se ralentit, il présente une vitesse à peu près uniforme entre 120 et 210 minutes soit 5,65 % / heure.

Le traitement du sédiment par HCl 2N suivi d'une centrifugation à 2500 tr/mn a pour effet : tout d'abord de provoquer la désorption des molécules faiblement liées au matériel minéral, ainsi que d'extraire l'eau interstitielle incluse dans le sédiment, et en second lieu de favoriser l'éclatement des cellules bactériennes et la diffusion dans la phase liquide des A.A. du pool intracellulaire. En fin d'opération, les molécules organiques dissoutes libérées vont repasser dans l'eau sus-jacente comme l'ont montré Jorgensen *et al* (1981). Les résultats (fig. 3) indiquent que plus de la moitié du traceur entraîné dans le sédiment, pendant les 10 premières minutes, l'était sous une forme peu liée ou faisait partie du pool intracellulaire bactérien. Par la suite, la fraction désorbable ne représente plus qu'un quart de la radioactivité incluse dans le sédiment. La différence entre la radioactivité totale du sédiment et la fraction libérée par le traitement acide (HCl 2N) représente les molécules radioactives liées à d'autres molécules organiques par voie chimique (protéines, - substances humiques) ou fortement chélatées par le complexe organo-minéral que constitue la couche superficielle du sédiment. Dans le cas présent, l'hydrolyse par HCl 6N va avoir pour effet de couper les liaisons peptidiques alors que certaines structures humiques, proches de l'humine, pourront résister à cette acidolyse. Les mesures de radioactivité effectuées sur l'hydrolysats montrent que la fraction résistante varie peu au cours de l'expérimentation.

Ainsi, nous avons pu montrer que l'adsorption de molécules d'A.A. dissoutes par les particules était responsable du transfert de matériel organique vers la surface du sédiment ; la moitié des molécules adsorbées peuvent être facilement remises en solution. Par contre, il existe une fraction fortement liée au matériel organo-minéral qui résiste même à l'hydrolyse par les acides forts. Cette observation confirme les résultats obtenus précédemment par Daumas *et al* (1984) sur l'adsorption de l'arginine et de la lysine par un sédiment vaseux.

Disparition des ¹⁴C-A.A. dissous

Dans l'eau sus-jacente, la remise en suspension du film superficiel du sédiment à l'instant $t = 0$ va mettre en contact les molécules d'A.A. avec les bactéries libres ou fixées sur les particules minérales. Les numérations directes et indirectes (fig. 4), montrent une légère augmentation de la population pendant les trente premières minutes, suivie d'une stabilisation plus ou moins marquée. Dans le sédiment, les numérations font apparaître des valeurs 1000 fois supérieures à celles trouvées dans l'eau sans variation notable durant les 120 minutes de l'expérience. Ceci permet de constater la richesse en bactéries du système eau-sédiment et la relative stabilité de la suspension : aucune baisse du nombre de bactéries de l'eau ne permet de conclure à une chute rapide du matériel en suspension. L'analyse par C.L.H.P. couplée à un détecteur de radioactivité nous fournit un moyen de suivre la disparition des ¹⁴C-A.A. dans la phase aqueuse (fig 5). Les résultats font apparaître des différences très importantes entre la radioactivité globale de l'eau et la somme des ¹⁴C-A.A. en solution. Après 10 minutes d'incubation (tab. 1), près des trois quarts des

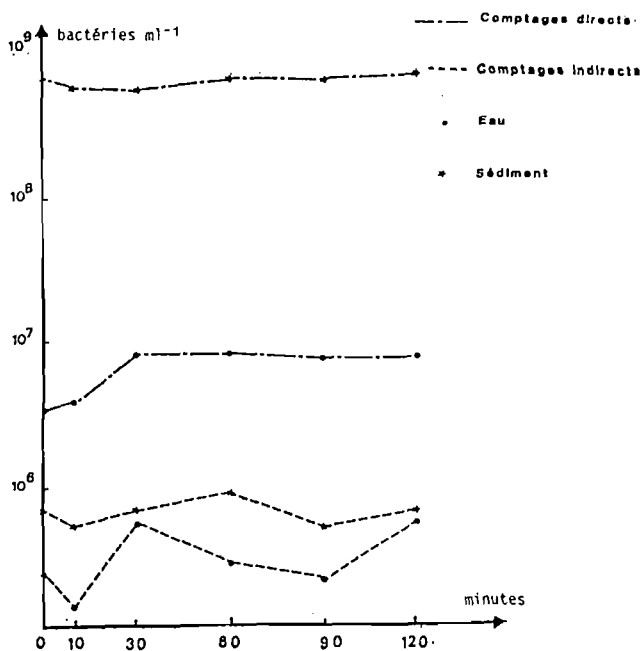


Figure 4 : Dénombrements des populations bactériennes dans l'eau et dans le sédiment par voie directe et par voie indirecte.

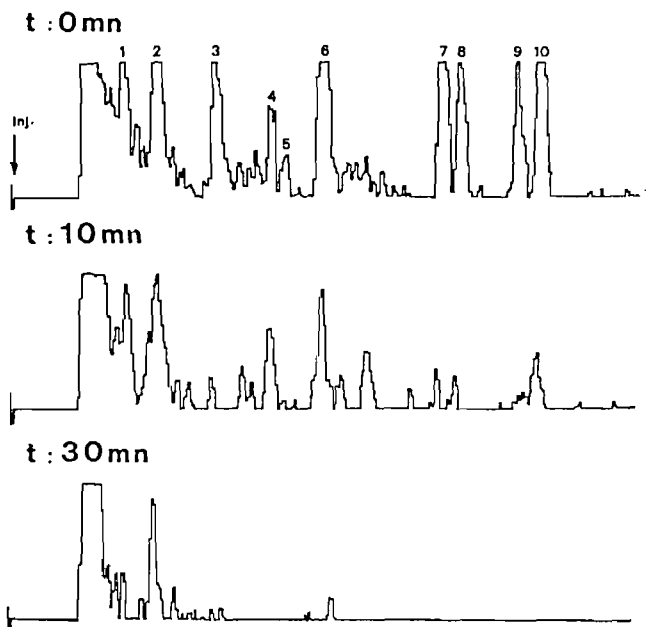


Figure 5 : Analyse chromatographique des ¹⁴C—A.A. aux temps 0, 10 et 30 minutes. Ing: injection; 1: acide aspartique; 2: acide glutamique; 3: sérine-histidine; 4: glycine-thréonine; 5: arginine; 6: alanine-tyrosine; 7: valine; 8: phénylalanine; 9: leucine; 10: isoleucine.

A.A. ont disparu ; après 30 minutes, il ne reste que 6,9 % des ^{14}C -A.A. présents au temps 0. En fin d'expérimentation, on ne retrouve plus d'A.A. marqués. L'analyse de la vitesse de disparition de chaque A.A. composant l'hydrolysate de chlorelle, nous a permis de constater qu'elle n'était pas uniforme pour les différents A.A. Le premier A.A. à disparaître est l'arginine. Les A.A. dicarboxyliques : acide aspartique et acide glutamique, sont encore présents après 90 minutes d'expérimentation ; les autres A.A. ont des taux de disparition compris entre 5 et 30 % en 10 minutes.

	Durée d'incubation				
	0 mn	10 mn	30 mn	90 mn	120 mn
Ac aspartique	100	48	18,9	12,6	-
Ac glutamique	100	38	26,9	25,4	-
Sérine - Histidine	100	10,7	-	-	-
Glycine - thréonine	100	90,1	-	-	-
Arginine	100	0	-	-	-
Alanine - Tyrosine	100	36,3	-	-	-
Valine	100	5,7	-	-	-
Phénylalanine	100	8,8	-	-	-
Leucine	100	5,5	-	-	-
Isoleucine	100	17,7	-	-	-

Tableau n°1. Pourcentage de ^{14}C -A.A. retrouvés dans l'eau sus-jacente aux différents temps d'incubation.

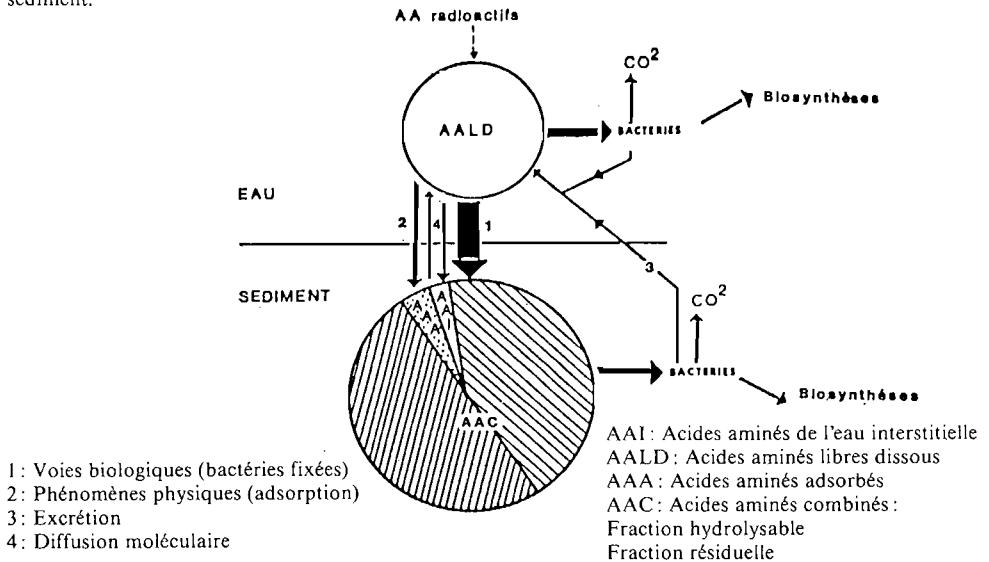
DISCUSSION

L'utilisation de molécules marquées, pour l'étude de l'activité des microorganismes, s'est généralisée depuis les travaux de Wright et Hobbie (1966) ; des voies différentes apparaissant selon la concentration du substrat et la durée d'incubation. La concentration des glucides et des A.A. dans l'eau de mer est de l'ordre de la micromole (Jorgensen *et al*, 1980). L'injection de la molécule marquée doit modifier le moins possible cette concentration afin de ne pas perturber le métabolisme des microorganismes ; ainsi les tendances actuelles dans ce domaine vont-elles vers l'injection de très faibles quantités de molécules radioactives à forte activité spécifique. Au cours de cette expérimentation, les quantités d'A.A. injectées ne représentaient que 1 % de la quantité présente dans la phase aqueuse et la composition du mélange correspondait à celle d'un hydrolysate de chlorelles (ceci pour tenir compte des proportions respectives des A.A. dissous provenant de la dégradation planctonique). La durée de l'expérimentation est l'objet de nombreuses divergences dues aux réémissions, dans le milieu ambiant, des déchets du métabolisme bactérien (Iturriaga et Zsolnay, 1981). Afin de pallier à cette cause d'erreur, Meyer-Reil (1978) conseille des temps d'incubation compris entre 1 et 10 minutes pour étudier l'absorption du glucose par les bactéries. Mayaudon et Batistic (1978) ont pour leur part noté la persistance dans le sol d'A.A. marqués au ^{14}C pendant de nombreux mois. Dans cette étude l'apparition dans le

milieu liquide, dès 10 minutes, de substances radioactives issues de la dégradation des A.A. marqués, semble confirmer la rapidité d'absorption ou d'utilisation du traceur. En effet, la radioactivité globale trouvée dans l'eau, bien que diminuant, reste moyenne (1.10^6 d.p.m.) jusqu'à trente minutes alors que les A.A. ont déjà disparu de la phase liquide. Cette radioactivité doit correspondre soit à des substances dérivées des A.A. soit à ces derniers adsorbés sur des particules ou encore à des A.A. absorbés par des microorganismes.

Nous avons rassemblé dans un schéma (fig. 6) les différentes voies que peuvent utiliser les A.A.L.D. lorsqu'ils sont situés à l'interface eau-sédiment et nous avons figuré les compartiments dans lesquels ils peuvent être retrouvés. La sédimentation reste la voie prioritaire de transfert de l'eau sus-jacente vers le sédiment. Ceci est valable pour un écosystème artificiel où il n'y a pas de phénomènes de courant, de vagues ou de bioturbation. La sédimentation peut se faire de deux façons : soit les A.A.L.D. sont assimilés par les bactéries présentes à l'interface puis sédimentent avec ces dernières fixées à la surface de particules (flèche n° 1) ; soit les A.A.L.D. sont directement adsorbés sur des particules en suspension (n° 2). Dans les deux cas, un phénomène de sédimentation se produit.

Figure 6 : Voies de transfert et d'utilisation des amino-acides libres dissous à l'interface eau-sédiment.



La différence se situe dans le sédiment où seule une partie des A.A. fixés aux particules par des liaisons faibles (liaison de Van Der Waal, liaison hydrogène) sera disponible pour les bactéries. Les A.A. déjà absorbés dans l'eau entrent dans le compartiment des A.A. combinés. Ils ne seront disponibles qu'après lyse cellulaire. Ces A.A. entrent dans le métabolisme bactérien pour servir à la respiration ou à des biosynthèses. Ils peuvent être excrétés sous forme de substances susceptibles d'être attaquées par des exoenzymes microbiens (n° 3). Une partie des A.A.L.D. peut également transiter par l'eau interstitielle. Il s'agit à ce niveau de diffusion moléculaire pouvant s'effectuer dans les deux sens (n° 4). Il est plus difficile de tracer la voie empruntée par les A.A. de la fraction résiduelle ayant résisté à l'hydrolyse acide : parmi les hypothèses qui peuvent être données, nous citerons la formation de substances humiques provenant de la combinaison de glucides simples et des A.A. au cours de l'hydrolyse (Janel *et al*, 1979).

CONCLUSION

Nous rappellerons notre objectif qui était d'avoir des informations sur la distribution et l'utilisation du traceur dans le film superficiel du sédiment. Pour atteindre ce but, nous avons provoqué la remise en suspension de ce film par agitation et étudié l'action des bactéries vis-à-vis des ^{14}C -A.A..

Cette étude a montré que les A.A. peuvent s'adsorber, dans une proportion non négligeable, sur les particules en suspension. Du fait de la sédimentation ultérieure de ces particules, on assiste à un transfert de molécules organiques de l'eau vers le sédiment. Le même mécanisme doit fonctionner sur les plages et dans les zones à faible hauteur d'eau (marais et lagunes).

Les A.A.L.D. disparaissent (par ad- et absorption) très rapidement lorsqu'ils sont injectés dans le système eau-sédiment, ce qui implique des temps d'incubation de l'ordre de quelques minutes lorsque l'on veut étudier l'assimilation de traceurs par les microorganismes. Cette façon d'opérer rendra possible l'assimilation du traceur mais limitera l'excrétion des produits de déchet issus du métabolisme. Le mécanisme d'adsorption sur les particules est, par contre, très rapide, il ne pourra être évité même en employant des temps d'incubation de quelques minutes.

Bien que l'utilisation d'un mélange de ^{14}C -A.A. soit à conseiller afin d'obtenir une information plus complète sur le métabolisme de la population bactérienne, cette expérience nous indique que l'on peut avoir recours à des temps inférieurs à 10 minutes, lorsqu'on veut étudier le métabolisme des A.A. à assimilation rapide (arginine et valine) alors que l'on doit prolonger l'étude au-delà de 30 minutes pour les A.A. dicarboxyliques dont l'assimilation est ralentie.

L'orientation des recherches devrait porter sur le choix du traceur en faisant appel non plus à des monomères mais à des polymères ou mieux à des organismes monocellulaires tels que algues, bactéries ou levures.

BIANCHI A.J.M., 1979. Distribution quantitative et qualitative des populations bactériennes à l'interface eau-sédiment. In *Biogéochimie de la matière organique à l'interface eau-sédiment marin*. Coll. Internationaux du C.N.R.S., n° 293, pp 269-274.

BROWN K.A., 1979. A modified procedure for determining ^{14}C - CO_2 produced by respiration in water or sediment samples. *Limnol. Oceanogr.*, 24, (6): 1141-1145.

CHRISTENSEN D. & BLACKBURN T.H., 1980. Turnover of tracer (^{14}C , ^3H labelled) alanine in inshore marine sediments. *Mar. Biol.*, 58, 97-103.

DAUMAS R.A., 1984. Echanges trophiques des sédiments superficiels de la communauté benthique. *Océanis*, Vol 10, Fasc. 4: 429-435.

DAUMAS R.A., GADEL F., CAHET G. & DINET A., 1984. Dégradation d'acides aminés à l'interface eau-sédiment reconstitué d'une lagune méditerranéenne. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.*, 68,(6): 1-13.

DREZE A. MOORE S. & BIGWOOD G., 1954. Dessalage des effluents de colonne à chromatographie. *Anal. Chim. Acta.*, 11: 554.

HOBBIE J.E., DALEY R.J. & JASPER S., 1977. Use of Nucleopore filters for counting bacteria by epifluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 805-812.

HOGAN D.L., KRAEMER K.L. & ISENBERG J.I., 1982. The use of H.P.L.C. for quantification of plasma amino acids in man. *Analyt. Biochem.*, 127: 17-24.

ITURRIAGA R. & ZSOLNAY A., 1981. Transformation of Some Dissolved Organic Compounds by a Natural Heterotrophic Population. *Mar. Biol.* 62: 125-129.

JANEL Ph., JOCTEUR-MONROZIER L. & TOUTAIN F., 1979. Caractérisation de l'azote des litières et des sols par hydrolyse acide. *Soil Biol. Biochem.*, 11: 141-146.

- JOHNSON R.G., 1974. Particulate matter at the sediment-water interface in coastal environments. *J. Mar. Res.*, 32, vol 2 : 313-330.
- JORGENSEN N.O.G., MOPPER K. & LINDROTH P., 1980. Occurrence, origin and assimilation of free amino acids in an estuarine environment. *Ophelia, Suppl.*, 1 : 179-192.
- JORGENSEN N.O.G., MOPPER K. & LINDROTH P., 1981. Extraction and distribution of free amino acids and ammonium in sediment interstitial waters from the Limfjord, Denmark. *Oceanol. Acta*, 4, vol 4 : 465-474.
- LINDROTH P. & MOPPER K., 1979. H.P.L.C. Determination of subpicomole amounts of amino acids by pre-column fluorescent derivatization with orthophthaldialdehyde. *Anal. Chem.*, 51 : 1667-1674.
- MAYAUDON J. & BATISTIC L., 1978. Décomposition des acides aminés ¹⁴C dans le sol. *Soil Biol. Biochem.* 10 : 557-559.
- MEYER-REIL L.A., 1978. Uptake of glucose by bacteria in the sediment. *Mar. Biol.*, 44, 293-298.
- OPPENHEIMER C.H. & ZOBEL C.E., 1952. The growth and viability of sixty-three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *J. Mar. Res.* 11 : 10-18.
- PAMATMAT M.M., GRAF G., BENGSSON W. & NOVAK C.S., 1981. Heat production, ATP concentration and electron transport activity of marine sediments. *Mar. Ecol. Prog. Series*, 4 : 135-143.
- ROWE G.T., CLIFFORD C.H. & SMITH Jr K.L., 1975. Benthic nutrient regeneration and its coupling to primary productivity in coastal waters. *Nature*, 255 : 215-217.
- STOTSKY C., 1980. Surface interactions of microorganisms, virus and organics with clay-minerals and the probable importance of these interactions in microbial ecology and in migration of clay-organic complexes. *Coll. C.N.R.S.*, n° 303 : 279-284.
- TALIBUDEEN O., 1955. Complex formation between montmorillonoid clays and amino-acids and proteins. *Trans. Faraday Soc.*, 51 : 582-590.
- VERMA L., MARTIN J.P. & HAIDER K., 1975. Decomposition of carbon 14-labelled proteins, peptides and amino-acids free and complexed with humic polymers. *Soil. Sci. Soc. Amer. Proced.*, 391 : 279-284.
- WRIGHT R.T. & HOBBIE J.E., 1966. Use of glucose and acetate by bacteria and algae in aquatic ecosystems. *Ecology*, 17 : 447-461.