

Origine exogène de la chitine décelée chez les Spongiaires

P. Dauby* et Ch. Jeuniaux**

* Département d'Océanologie, Institut de Chimie,
Université de Liège, Bât. B 6, B-4000 Sart Tilman (Belgique)

** Laboratoire de Morphologie, Systématique et Ecologie animales
Université de Liège, quai Van Beneden, 22, B-4020 Liège (Belgique).

Résumé : Le présent travail tend à mettre un terme à la controverse sur l'origine de la chitine trouvée chez les Spongiaires. D'après des dosages effectués sur des échantillons d'âges et de textures différents, il apparaît que les organismes endobiontes sont à l'origine des quantités de chitine mises en évidence dans les diverses espèces d'éponges. La détermination de la biomasse de ces endobiontes permet d'expliquer la quasi totalité de la chitine des éponges qui semble donc strictement d'origine exogène.

Abstract : The present work is trying to stop the controversy about the origin of chitin in Sponges. From measurements made on samples of different ages and textures, it appears that endobiotic organisms are playing an important part in the production of chitin found in Sponges. Moreover, the precise determination of the biomass of these organisms in samples allows to explain the total amount of measured chitin, which indicates that the origin of this chitin is strictly exogenous.

INTRODUCTION

La distribution de la chitine, haut polymère de la N-acétylglucosamine, chez les êtres vivants a, de longue date, intéressé divers chercheurs en raison de son implication possible dans les discussions d'ordre phylogénétique (Richards, 1951). Devant l'imprécision des méthodes utilisées avant 1950, il faudra attendre les travaux de Rudall (1955) pour obtenir, par l'analyse des images de diffraction des rayons X, un premier tableau de la distribution de ce polymère au sein des principaux phyla du règne animal. Cette étude, complétée par Hyman (1958), ne fournit cependant que des résultats purement qualitatifs et, dans certains cas, d'interprétation difficile.

L'un de nous (Jeuniaux, 1963, 1965, 1982), utilisant les propriétés spécifiques des enzymes chitinolytiques, a établi un tableau de la répartition de la chitine chez les êtres vivants sur base de dosages quantitatifs ; ce schéma, quasi exhaustif, n'a guère été modifié depuis, si ce n'est par la découverte récente, et singulière, de chitine dans la tunique des Ascidiacés et dans leur membrane pérित्रophique. Certaines inconnues subsistent toutefois et ont trait notamment à l'origine de la chitine trouvée chez les Spongiaires. En effet, certaines espèces d'éponges semblent contenir une certaine quantité de chitine dans leurs tissus, d'après des dosages réalisés sur du matériel prélevé dans différents milieux (Jeuniaux, 1963 ; Boutique, 1978 ; présent travail).

En l'absence d'une démonstration de la localisation précise de la chitine, on doit envisager l'hypothèse d'une origine exogène de ce polymère chez les éponges. Il est en effet bien connu que les Spongiaires servent d'hôtes ou de substrats à une multitude de végétaux ou d'animaux dont certains présentent une teneur relativement élevée en chitine. Ainsi, Boutique (1978) a montré que la proportion de chitine contenue dans les tissus de certaines espèces de Spongiaires des côtes méditerranéennes diminuait au fur et à mesure que l'on débarrassait ces organismes de leurs épi- et endobiontes. Malheureusement, il s'avère pratiquement impossible de nettoyer complètement une éponge de la totalité des organismes qu'elle héberge et, par là, d'effectuer des mesures spécifiques de la teneur en chitine de ses tissus. Nous avons tenté de résoudre ce problème en comparant la quantité de chitine contenue dans des échantillons d'éponges de diverses espèces à la quantité de chitine correspondant à la biomasse d'organismes endobiontes habitant ces mêmes éponges.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les divers échantillons de Spongiaires ont été récoltés en plongée sous-marine sur différents substrats dans l'étage infralittoral du Golfe de Calvi (Corse). Les individus ont été prélevés, dans la mesure du possible, vivants et entiers (avec toute leur épibiose), puis placés *in situ* dans des conteneurs en matière plastique remplis d'eau de mer. Remontés en surface, ces échantillons ont été directement conduits au laboratoire pour analyse, sous loupe binoculaire, des différents organismes présents à leur surface. Ces derniers ont été retirés de leur substrat, triés en groupes systématiques, comptés, puis déshydratés en étuve. Après ce nettoyage superficiel, les éponges ont été découpées en tranches fines ou dilacérées afin d'étudier leur faune endobionte. Les organismes constituant cette faune ont également été comptés et identifiés (jusqu'à l'ordre), mais aucune tentative n'a été faite pour les retirer (à l'exception de certains de "très grande" taille comme le Cirrhipède *Acasta spongicola*). Les échantillons ont ensuite été lavés à l'eau douce sur filtre en fibre de verre GF/C afin d'en extraire la majeure partie des sels minéraux, puis ont été séchés en étuve à 60° C pendant 24 à 48 heures. Ils ont ensuite été pesés et séparés chacun en deux parties, l'une destinée à la mesure du poids sec déminéralisé (PSD), l'autre au dosage de la quantité de chitine. Les poids secs sont obtenus après décalcification par l'acide chlorhydrique 1 N, désilicification à l'acide fluorhydrique à 20 % et lavages répétés à l'eau distillée. Le matériel destiné au dosage de la chitine subit le même traitement préliminaire puis est maintenu dans une solution de NaOH 0.5 N à 100° C pendant 6 heures afin de démasquer la chitine des complexes glycoprotéiques; après lavages par centrifugation, ce matériel subit l'action de deux enzymes, chitinase et chitobiase, qui hydrolysent la chitine présente en N-acétyl glucosamine, dosée par la méthode colorimétrique de Reissig *et al.* (1955) selon la méthode enzymatique de Jeuniaux (1963, 1975). Les résultats sont exprimés en mg chitine/g PSD (‰).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le nombre de groupes zoologiques commensaux ou parasites des éponges est important. Le but de ce travail n'étant pas d'en dresser une liste faunistique exhaustive, nous nous contenterons de présenter un aperçu (Tableau 1) des principaux clades qui ont pu être recensés ou qui sont cités dans la littérature (Pansini, 1970; Bacescù, 1971; divers auteurs *in* Sarà & Vacelet, 1973). Parmi les épibiotés, fixés ou vagiles, les organismes assurément les mieux représentés (en biomasse) sont les Bryozoaires qui ont été trouvés sur tous les échantillons de Spongiaires analysés; viennent ensuite les petits Crustacés, Ostracodes et Copépodes, qui "gravitent" autour des éponges et s'y abritent à la moindre alerte.

Les groupes d'endobiotés les plus fréquemment rencontrés varient suivant le type d'éponges. Chez les espèces à consistance relativement molle, peu silicifiées, et où le système aquifère occupe un volume important (*Crambe*, *Clathrina*, *Ircinia*), ce sont les Polychaetes et les Crustacés d'assez grande taille (Amphipodes, Cirrhipèdes, Décapodes) qui constituent l'essentiel de la biomasse. Chez les espèces plus rigides, celles dont le rapport PSD/poids sec total est le plus faible (*Petrosia*, *Axinella*...), ce sont les groupes de petite taille (Ciliés, Copépodes Harpacticoïdes, Ostracodes) qui prédominent; pour ces deux groupes de Crustacés, des estimations de densité de populations ont été réalisées sur du matériel frais: le nombre d'individus/cm³ d'éponge varie de 6 à 17.

Les quantités de chitine totale observées dans nos échantillons sont relativement faibles (Tableau 2), toujours inférieures à 0.3 % par rapport au PSD, soit quatre fois moins que la teneur obtenue par Boutique (1978) sur des échantillons non débarrassés de la majorité de leurs épi- et endobiotés. Il est à noter également que les rapports chitine/PSD que nous avons mis en évidence chez les Spongiaires sont nettement plus faibles que ceux obtenus pour des organismes ou des parties d'organismes d'autres phyla chez lesquels la présence de chitine est notablement prouvée.

Il reste toutefois à expliquer ces teneurs, même faibles, en chitine observées dans nos échantillons. Trois arguments plaident pour une origine exogène de cette chitine.

Le premier fait appelle à la structure morphologique des éponges, ou plutôt à l'importance du squelette spiculaire dans la masse totale de ces animaux. On remarque en effet (Fig. 1) que le rapport chitine/PSD augmente en même temps que le rapport PSD/poids sec total, autrement dit qu'il existe une relation inverse entre les teneurs en chitine et celles en silice. Cette observation peut s'expliquer en tenant compte du "volume offert" aux endobiotés suivant l'espèce d'éponge considérée; il est en effet aisé d'observer que plus une éponge est silicifiée, plus son squelette est dense, moins il y a de place disponible pour l'installation de formes de grande taille susceptibles d'augmenter significativement la teneur globale en chitine.

Tableau 1 : Liste des principaux groupes zoologiques rencontrés sur ou dans les éponges (d'après Pansini, 1970 ; Bacescu, 1971 ; Sarà & Vacelet, 1973 ; présent travail).

Groupes	Epibiotes	Endobiotes	Présence de chitine (1)
Protozoaires			
Ciliés	*	*	* (2)
Amoébiens		*	
Cnidaires			
Hydrozoaires	*	*	*
Scyphozoaires		*	
Nématodes		*	
Platyhelminthes		*	
Annélides			
Polychaetes	*	*	*
Mollusques			
Gastéropodes	*	*	*
Bivalves	*	*	*
Céphalopodes	*		*
Bryozoaires Ectoproctes	*		*
Crustacés			
Ostracodes	*	*	*
Copépodes	*	*	*
Cirripèdes		*	*
Amphipodes	*	*	*
Isopodes	*	*	*
Mysidacés		*	*
Décapodes	*	*	*
Echinodermes			
Ophiuroïdes	*		
Vertébrés			
Poissons		*	

(1) d'après Jeuniaux, 1982.

(2) dans les kystes de nombreuses espèces, ou dans les fourreaux des folliculinidae.

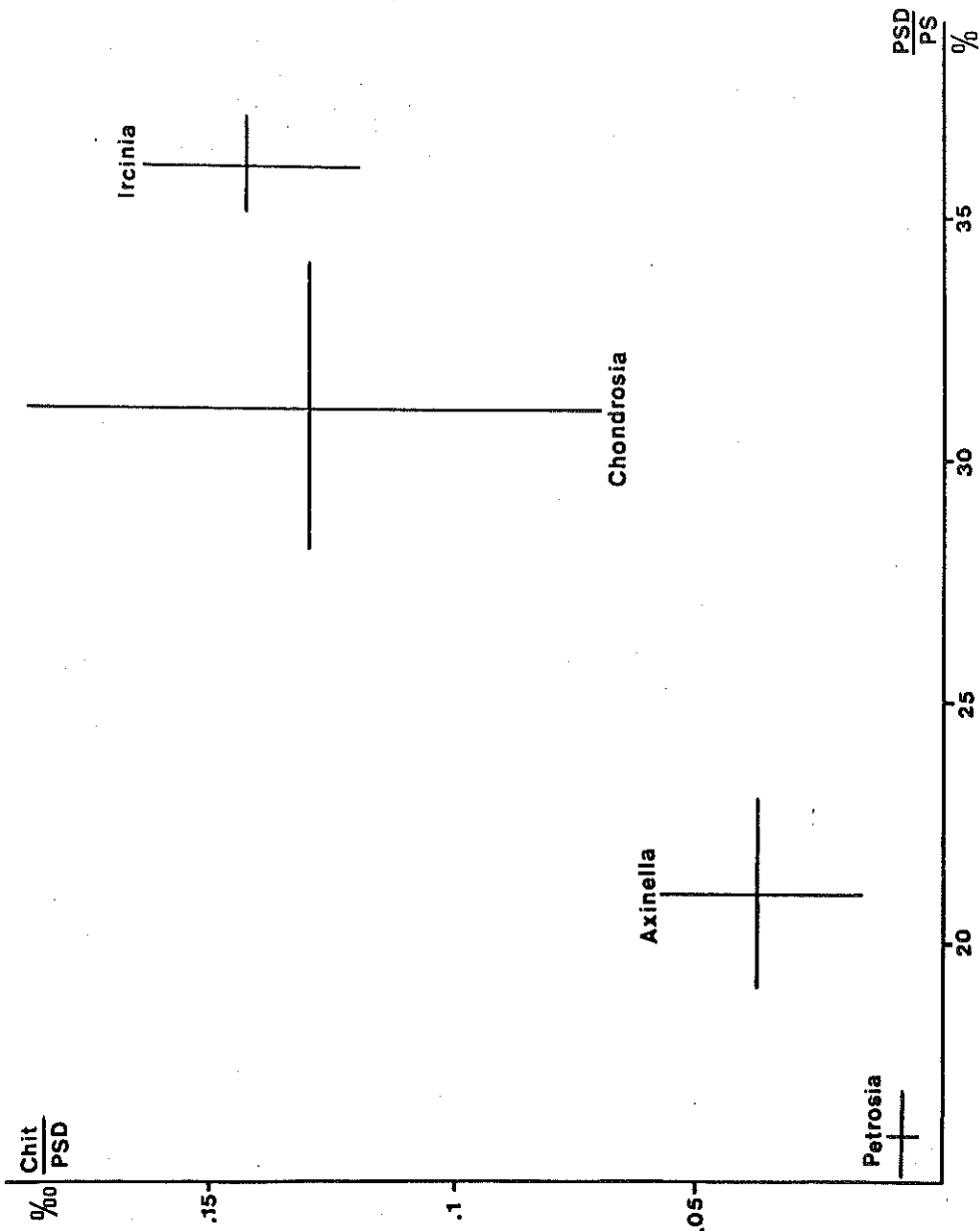


Fig. 1 - Rapport de la quantité de chitine au poids sec déminéralisé (chit./PSD) et du poids sec déminéralisé au poids sec total (PSD/PS) chez les espèces de 4 genres d'éponges.

Le deuxième argument repose sur la comparaison des rapports chitine/PSD chez une même espèce (*Chondrosia reniformis*) en fonction de la taille de celle-ci. Il semble a priori logique de penser que la teneur en chitine d'un organisme ne doit que peu varier au cours de sa croissance. Or, chez les exemplaires de *Chondrosia* que nous avons analysés (Fig. 2), on note une augmentation significative et constante de la concentration en chitine en fonction de la taille, et donc de l'âge, des individus analysés. Ceci ne peut s'expliquer que par un accroissement du "taux d'occupation" avec le vieillissement des individus.

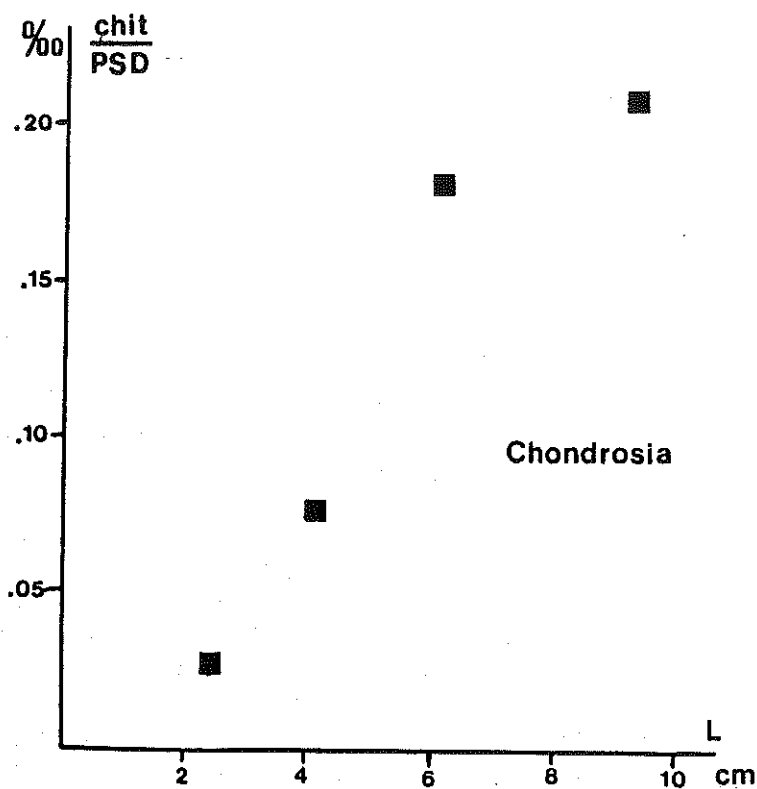


Fig. 2 - Concentration en chitine, en milligrammes par gramme de poids sec déminéralisé (=Chit./PSD) en fonction de la taille chez différents exemplaires de l'espèce *Chondrosia reniformis*.

Tableau 2 : Quantité de chitine par rapport au poids sec déminéralisé (Chitine/PSD), exprimée en ‰, chez divers genres de Spongiaires.

Genre	Chitine/PSD	Auteur	Remarque
<i>Ficulina</i>	0.033	Jeuniaux, 1963	
<i>Ephydatia</i>	12.1	"	gemmules non nettoyées
Divers :	1.102-1.362	Boutique, 1978	échantillons non nettoyés
<i>Petrosia</i>	0.044	"	échantillons nettoyés
<i>Ircinia</i>	0.093	"	"
<i>Axinella</i>	0.200	"	"
<i>Chondrosia</i>	0.024-0.210	présent travail	"
<i>Hemimycale</i>	0.057	"	"
<i>Ircinia sp 1</i>	0	"	"
<i>Ircinia sp 2</i>	0.120-0.165	"	"
<i>Petrosia</i>	0.054-0.094	"	"
<i>Axinella spp</i>	0.016-0.057	"	"
<i>Clathrina</i>	0.298	"	"

Troisièmement, si l'on fait le compte des biomasses de chitine provenant des endobiotes, on arrive à expliquer l'origine de la quasi totalité de celle-ci. En effet, un Copépode Harpacticoïde ou un Ostracode moyen de 0,5 mm de long pèse environ 1 µg PSD (Dauby, 1985), ce qui représente 0.05 µg chitine (Mullin & Brooks, 1967). Or, nos dosages, réalisés sur des échantillons d'éponges de volume variant de 8 à 15 cm³, ont fourni des quantités de chitine d'approximativement 10 µg, soit environ 1 µg/cm³ d'éponge. Il apparaît donc que la présence des seuls petits Crustacés (à raison de 20 individus/cm³, chiffre qui est supérieur, mais pas de beaucoup, à ce qui a été observé) suffirait à expliquer toute la chitine trouvée dans nos échantillons.

Enfin, il conviendrait d'ajouter à cette chitine endobionte une certaine quantité de chitine alimentaire, l'eau filtrée par les éponges en contenant quelques traces ($\pm 0.1 \mu\text{g/l}$) provenant de la décomposition des organismes du zooplancton.

CONCLUSION

Le problème de l'origine, endogène ou exogène, de la chitine trouvée chez les Spongiaires n'avait pas encore reçu de réponse convaincante. Si les images obtenues par diffraction des rayons X (Rudall, 1955) faisaient plutôt pencher pour une absence de sécrétion de chitine par ces organismes, les dosages réalisés par différents auteurs laissaient apparaître la présence plus ou moins constante de ce

polymère, en petite quantité il est vrai. Si, intuitivement, il semblait vraisemblable de considérer cette chitine comme apportée par les nombreux endobiotes qui peuplent les éponges, aucune preuve n'en avait été fournie, principalement en raison de la difficulté, voire de l'impossibilité, de préparer des échantillons parfaitement propres. Dans le présent travail, nous avons développé des arguments, directs ou indirects, plaidant en faveur de l'origine exogène de la chitine des Spongiaires. Ainsi, l'augmentation des teneurs en chitine avec la croissance en volume d'une éponge peut s'expliquer par un accroissement de la biomasse de ses épi- et endobiotes. D'autre part, l'augmentation de la teneur en chitine dans des éponges de moins en moins silicifiées, donc possédant un ensemble de cavités de plus en plus volumineux, est une autre indication de la nature exogène de cette chitine. Enfin, une analyse détaillée du type, mais surtout du nombre et de la biomasse des endobiotes permet d'expliquer plus de 70 % des quantités de chitine trouvées dans les dosages.

L'ensemble de ces arguments nous paraissent suffisants pour conclure que les Spongiaires sont incapables de synthétiser de la chitine.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Dr D. Bay ainsi que tout le personnel de la Station Océanographique STARESO de l'Université de Liège à Calvi (Corse) pour leur collaboration efficace à la récolte des échantillons. Que Mlle C. Toussaint et le Dr M. Poulícek soient également assurés de notre reconnaissance pour leur aide précieuse lors de la réalisation des dosages.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BACESCÚ, M., 1971. Les Spongiaires ; un des plus intéressants biotopes benthiques marins. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 20 : 293-341.
- BOUTIQUE, R., 1978. Contribution à l'étude de la biomasse et de la production de chitine dans diverses biocénoses benthiques marines. Mémoire de licence, Université de Liège : 59 pp.
- DAUBY, P., 1985. Dynamique et productivité de l'écosystème planctonique du Golfe de Calvi, Corse. Thèse de doctorat, Université de Liège : 290 pp.
- HYMAN, L.H., 1958. The occurrence of chitin in Lophophorata phyla. *Biol. Bull.*, 114 : 106-112.
- JEUNIAUX, Ch., 1963. *Chitine et chitonolyse*, Masson, Paris : 181 pp.
- JEUNIAUX, Ch., 1965. Chitine et phlogénie : application d'une méthode enzymatique de dosage de la chitine. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 47 : 2267-2278.
- JEUNIAUX, Ch., 1975. Principes de systématique biochimique et application à quelques problèmes particuliers concernant les Aschelminthes, les Polychètes et les Tardigrades. *Cah. Biol. Mar.*, 16 : 597-612.
- JEUNIAUX Ch., 1982. La chitine dans le règne animal. *Bull. Soc. Zool. France*, 107 : 363-386.
- MULLIN, M.M. & E.R. BROOKS, 1967. Laboratory culture, growth rate, and feeding behaviour of a marine planktonic Copepod. *Limnol. Oceanogr.*, 12 : 657-666.
- PANSANI, M., 1970. Inquinilismo in *Spongia officinalis*, *Ircinia fasciculata* e *Petrosia ficiformis* della Riviera Ligure di Levante. *Boll. Mus. Ist. biol. Univ. Genova*, 38 : 5-17.

- REISSIG, J.L., J.L. STROMINGER and L.F. LOEHR, 1955. A modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl-aminosugars. *J. Biol. Chem.*, 217 : 151-966.
- RICHARDS, A.G., 1971. *The integument of Arthropods*. Univ. Minnosota Press, Minneapolis.
- RUDALL, K.M., 1955. The distribution of collagen and chitin. *Symp. Soc. exp. Biol.*, 9 : 49-71.
- SARA, M. & J. VACELET, 1973. *Ecologie des Démosponges*. In *Traité de Zoologie*, 3 : 462-576. PP. Grasse éd., Masson, Paris.