

Bactéries hétérotrophes aérobies isolées d'invertébrés benthiques des eaux côtières méditerranéennes : caractéristiques des souches, production d'exoenzymes et d'agents antibactériens

Aerobic heterotrophic bacteria associated with some mediterranean coastal benthic invertebrates : characterization of strains, exoenzyme and antibiotic production

par Pascale Marty, Yvan Martin

Institut océanographique Paul Ricard, Ile des Embiez, 83140 Six-Fours-les-Plages (France)

RÉSUMÉ

Nous avons étudié quelques propriétés des bactéries hétérotrophes associées à certains invertébrés marins prélevés dans l'infra littoral méditerranéen : éponges, anthozoaires, bivalves, tuniciers, échinodermes. En plus de la série de tests de caractérisation des souches bactériennes isolées (morphologiques, biochimiques, culturaux), on a évalué certaines fonctions particulières : production d'exoenzymes, synthèse de facteurs de croissance, utilisation de micropolluants, production d'antibactériens. L'étude a été effectuée sur 432 souches.

Il apparaît que les bactéries isolées des échinodermes sont les plus intéressantes pour la production d'hydrolases ; chez *Paracentrotus lividus*, l'indice moyen de production est le plus important avec, 50,37 % ; chez *Holothuria tubulosa*, la microflore associée produit 87,5 % des exoenzymes recherchés. Pour la synthèse des facteurs de croissance, les résultats sont très variables d'un échantillon à l'autre ; les bactéries issues de la microflore des échinodermes ainsi que de celle de *Verongia aerophoba* ont un important besoin en facteurs de croissance ; à l'opposé toutes celles issues d'*Actinia equina* sont prototrophes. L'utilisation de micropolluants comme unique source de carbone et d'énergie est par contre peu répandue ; certains composés comme le phényl carbamate, l'aniline et l'acide phtalique ne sont jamais utilisés. Les détergents anioniques étudiés sont les seuls micropolluants attaqués, et ils le sont en faibles proportions.

La production d'antibactériens est active chez les populations issues des spongiaires : 4 à 75 % des souches associées à chaque éponge testée ont cette capacité. Les propriétés antibactériennes de ces invertébrés seraient, peut-être, en partie liées à la sécrétion de ces substances par la microflore associée.

ABSTRACT

We have studied several properties of heterotrophic bacteria associated with certain marine invertebrates collected from mediterranean infralittoral areas : sponges, anthozoa, bivalves, tunicates and echinoderms. In addition to characterization tests of isolated bacterial strains, we evaluated specific functions : exoenzyme production, growth factor synthesis, utilisation of micropollutants and antibacterial compound production. The study has been carried out on 432 strains.

It appears that bacteria isolated from echinoderms are the most interesting for exoenzyme production : average index of production was most significant for *Paracentrotus lividus*. Associated bacteria from *Holothuria tubulosa* produced 87,5 % of the enzymes studied. For growth factor synthesis, results were variable from one sample to another. Bacteria from echinoderms and *Verongia aerophoba* required vitamins and amino acids. On the contrary, all those isolated from *Actinia equina* were prototrophic. The utilisation of micropollutants as a unique source of carbon and energy was rare. Some compounds, such as phenyl carbamate, aniline and phtalic acid were not utilized. Anionic detergents were the only pollutant degraded and only in low proportions.

Antibacterial compound production was demonstrated for populations isolated from sponges, with 4 to 75 % of associated bacterial communities of all sponges demonstrating this ability. Antibacterial properties of sponges might be, in part, accelerated by production of these compounds by bacteria.

MOTS CLÉS

BACTÉRIES MARINES, INVERTÉBRÉS BENTHIQUES, BIOTECHNOLOGIE,
EXOENZYMES, ANTIBACTÉRIEN

KEY-WORDS

MARINE BACTERIA, BENTHIC INVERTEBRATE, BIOTECHNOLOGY,
EXOENZYMES, ANTIBIOTICS

Article reçu le 10 janvier 1991, accepté le 19 septembre 1991./ Received January 10, 1991 ; accepted September 19, 1991

INTRODUCTION

Les possibilités d'utilisation des bactéries d'origine aquatique à des fins biotechnologiques ont été examinées et démontrées (Staley et Stanley, 1986), notamment pour les souches issues du milieu marin et surtout des sources hydrothermales profondes (Prieur, 1989). Les applications éventuelles concernent des domaines variés : production de substances diverses, biodégradation de composés toxiques ou réfractaires, bio-accumulation, bio-transformation...

Pourtant les propriétés des bactéries hétérotrophes associées aux invertébrés marins sont encore peu connues en dehors de quelques études sur les microflores des mollusques bivalves qui ont montré la capacité des souches à produire différents exoenzymes (Martin, 1976 ; Prieur, 1984), de celles des polychètes (Gaill *et al.*, 1984), des anthozoaires (Herndl et Velimirov, 1986) ou des holothuries (Vianna Doria, 1985). Cette flore participerait à la digestibilité du bol alimentaire, synthétiserait des nutriments et des facteurs de croissance, et serait elle-même digérée en partie, servant ainsi de source d'énergie à l'hôte. De même, on sait que les éponges marines sont aptes à produire des toxines diverses (Minale, 1976 ; Thompson, 1985 ; Escoubet et Auscher, 1986), et des composés antimicrobiens (Sharma et Burkolder, 1967 ; Sharma et Vig, 1972 ; Thomson *et al.*, 1985 ; Walker *et al.*, 1985). Mais malgré l'abondance des bactéries hétérotrophes rencontrées dans certaines d'entre elles (Vacelet, 1975 ; Simpson, 1984 ; Burlando *et al.*, 1988), on connaît peu le rôle des microflores qui leur sont associées et leurs activités en dehors de leurs effets dans le transfert des nutriments vers les cellules des spongiaires (Wilkinson et Garrone, 1980).

Nous avons étudié quelques propriétés des bactéries aérobies isolées à partir de différents invertébrés benthiques prélevés dans l'infralittoral méditerranéen, afin de cerner les potentialités d'utilisation de ces bactéries à des fins appliquées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'échantillonnage des bactéries a été effectué sur plusieurs invertébrés benthiques prélevés en scaphandre autonome entre 5 et 10 m de profondeur autour de l'île des Embiez (Var-France), en particulier des éponges (Ep1 : *Spongia officinalis* ; Ep2 : *Agelas oroides* ; Ep3 et 8 : *Crambe crambe* ; Ep4 : *Axinella damicornis* ; Ep6 : *Petrosia ficiformis* ; Ep9 : *Halicondriidae* ; Ep10 : *Verongia aerophoba*) ; mais également des anthozoaires (Ec : *Eunicella cavolini* ; Ac : *Actinia equina* ; Pa : *Parazoanthus axinellae*) ; un tunicier (Tu : *Microcosmus* sp.), un bivalve (Bi : *Ostrea edulis*) et deux échinodermes (Pl : *Paracentrotus lividus* ; Ho : *Holothuria tubulosa*), de même que sur l'eau de mer du même site.

Pour évaluer l'abondance des bactéries, 1 gramme de broyat de la totalité ou d'un fragment du corps des animaux a été étalé après dilution sur milieu 2216 E gélosé (Oppenheimer et Zobell, 1952). Après 10 jours d'incubation à la température du laboratoire, les colonies bactériennes développées à la surface des plaques de gélose ont été dénombrées et 25 d'entre elles isolées au hasard pour chaque prélèvement. Chaque échantillon de souches a été caractérisé par une série de tests morphologiques, biochimiques et culturaux ; morphologie des cellules, coloration de Gram, pigmentation, sporulation, mobilité, croissance à 4°, 37° et 45°C à 0,65, 100 et 175 g de NaCl par litre, production de catalase et oxydase, type respiratoire et métabolisme du glucose, réduction des nitrates, ammonification...

A côté de ces tests classiques et compte tenu des objectifs de l'étude, on a évalué les capacités des souches à réaliser certaines fonctions particulières :

- production d'exoenzymes en milieux gélosés (hydrolyse de : gélatine, amidon, DNA, urée, alginates, agar, cellulose, chitine, Tween 80) ;
- synthèse de facteurs de croissance : croissance

sur milieu minimum à l'eau de mer artificielle, exigences en vitamines, en acides aminés ;

- utilisation de micropolluants organiques comme unique source de carbone et d'énergie (phényl carbamate, phtalate, phénol, aniline, lauryl sulfate, dodécyl benzène sulfonate) par appréciation de la croissance sur milieu gélosé synthétique déjà décrit (Martin et Bianchi, 1980) additionné de 100 mg/l de chaque toxique considéré ;

- production d'antibactériens par la méthode de diffusion en milieu gélosé en double couche utilisée par Gauthier (1970), vis-à-vis de 7 bactéries test : *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio ordalii*.

Pour l'ensemble des prélèvements, 432 souches bactériennes ont été isolées et ainsi caractérisées.

RÉSULTATS

□ Abondance des bactéries hétérotrophes aérobies viables

Les bactéries revivifiables dans les conditions de culture ici utilisées associées aux invertébrés utilisés ($10^{3,8}$ à $10^{7,15}$ bactéries/ml) sont beaucoup plus abondantes que dans l'eau de mer environnante (tableau 1). Les éponges présentent des effectifs bactériens élevés ($10^{5,5}$ /ml en moyenne) mais variables selon l'espèce considérée avec les plus faibles pour *V. aerophoba* (Ep10 : $10^{4,15}$ bactéries/ml).

□ Caractères généraux des souches isolées

Les souches étudiées sont en majorité des bâtonnets Gram négatif (tableau 2) possédant une catalase et une oxydase, généralement aérobies strictes sauf dans le cas de *V. aerophoba* (Ep10) où l'on observe un fort pourcentage de bactéries aérobies facultatives (92 %).

Si plusieurs d'entre elles peuvent proliférer à 4 et 37°C, aucune ne tolère une température de 45°C ni une salinité de 175‰. La réduction des nitrates est une propriété assez répandue (de 21 à 100 % de souches). On note un fort pourcentage de souches ammonifiantes dans les échantillons issus de l'éponge *P. piciformis* (Ep6 : 83 %) et de l'actinie (Ac : 100 %).

□ Production d'exoenzymes

La production d'exoenzymes est relativement commune avec des différences selon l'enzyme

considéré et l'origine de l'échantillon (tableau 3). On remarquera l'importance des souches protéolytiques (83 %) chez *Actinia equina* (Ac) et le fort pourcentage de souches susceptibles de proliférer à 4°C (96 %) et à 100 g de NaCl/l (79 %). Ce sont plutôt les souches prélevées dans le tractus digestif des échinodermes qui présentent les plus grandes capacités avec une forte proportion de souches protéolytiques (69 %), alginolytiques (95 %) et chitinolytiques (61 %) chez *Paracentrotus lividus* (Pl) et agarolytiques (12 %), alginolytiques (87 %) ou cellulolytiques (12 %) chez l'holothurie (Ho).

□ Prototrophie

La fréquence des souches prototrophes, donc capables de synthétiser des facteurs essentiels (vitamines, acides aminés...), varie de 30 à 85 % selon les prélèvements (tableau 4). La majorité des bactéries associées aux échinodermes (Ho, Pl) ont un besoin important en facteurs de croissance. A l'opposé, toutes les souches bactériennes prélevées sur l'actinie (Ac) sont prototrophes.

Tableau 1 - Abondance des bactéries hétérotrophes aérobies associées à chaque prélèvement./Distribution of viable aerobic heterotrophic bacteria associated with each sample.

	Nombre de bactéries/ml
EAU (22/1)	$2,50.10^2$
EAU (03/2)	$2,25.10^2$
EAU (29/3)	$3,55.10^2$
EPONGE 1	$2,63.10^5$
EPONGE 2	$7,08.10^5$
EPONGE 3	$5,62.10^4$
EPONGE 4	$1,58.10^5$
EPONGE 6	$1,12.10^5$
EPONGE 8	$1,41.10^7$
EPONGE 9	$2,51.10^5$
EPONGE 10	$1,41.10^4$
EC	$1,58.10^5$
AC	$2,23.10^5$
TU	$1,00.10^4$
BIV	$6,30.10^3$
PA	$1,58.10^4$
PL	$1,51.10^5$
HO	$7,08.10^4$

Dans le cas de *V. aerophoba* (Ep10), on remarquera qu'aucune souche étudiée ne peut subvenir à ses besoins en facteurs de croissance (acides aminés et vitamines).

☐ Utilisation de toxiques organiques comme unique source de carbone et d'énergie

Les souches bactériennes étudiées montrent peu d'aptitude à l'utilisation des différents toxiques sauf pour les détergents anioniques dans le cas de certains prélèvements (tableau 5).

Le lauryl sulfate est utilisé en faible proportion (de 4 à 48 %) par les souches isolées de 8 des 12 invertébrés sur lesquels le test a été effectué.

Pour l'alkyl-benzène sulfonate les pourcentages d'utilisation observés vont de 4 à 35 %, mais les échantillons de seulement 4 invertébrés sur les 12 (*A. damicornis* (Ep4), *C. crambe* (Ep8) *Halicondriidae* (Ep9), *Microcosmus* sp. (Tu) sont concernés. Plusieurs composés (phénylcarbamate, phtalate, aniline) ne sont utilisés par aucune des souches étudiées.

☐ Production d'antimétabolites

La propriété la plus remarquable pour les bactéries associées aux éponges concerne la production d'antimétabolites (tableau 6). Il existe des souches productrices dans chaque éponge testée alors que ce n'est pas le cas pour les autres organismes.

En effet, avec des pourcentages de souches productrices allant de 4 % (*P. ficiformis* (Ep6) jusqu'à 75 % (*A. damicornis* (Ep4) de la population bactérienne testée, toutes les microflore associées aux spongiaires étudiés possèdent cette propriété.

Le spectre d'activité est assez large, avec une inhibition de plus de la moitié des germes test choisis, pour les souches isolées de *Spongia officinalis* (Ep1), *Crambe crambe* (Ep3), *Axinella damicornis* (Ep4) et *Verongia aerophoba* (Ep10), mais c'est également le cas pour les souches isolées d'*Ostrea edulis* (Biv) (tableau 6). *Pseudomonas aeruginosa* paraît être l'organisme le plus résistant parmi les espèces choisies ; il est cependant sensible à 21 % des souches de *Spongia officinalis* (Ep1) et à 10 % de celles provenant de *Verongia aerophoba* (Ep10).

Tableau 2 - Caractères généraux des souches isolées (fréquences en pourcentage)./General characters of isolated strains/frequencies in percentage.

Souches Caractères	EAU 22/1	EAU 3/2	EAU 29/3	EPONGE 1	EPONGE 2	EPONGE 3	EPONGE 4	EPONGE 6	EPONGE 8	EPONGE 9	EPONGE 10	EC	AC	TU	BIV	PA	PL	HO
Bâtonnets	96	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Gram -	100	100	100	100	100	100	100	100	96	92	91	100	100	100	100	91	96	88
Mobilité	45	52	38	17	14	0	0	79	0	30	0	0	46	17	13	9	52	8
Pigmentation	60	35	0	21	23	0	30	17	22	56	0	100	0	66	39	68	0	0
Catalase	80	96	100	96	100	78	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	95	96
Oxydase	80	74	90	83	100	83	70	96	87	83	91	100	100	100	74	91	87	100
Aérobies str.	100	74	81	79	91	87	90	100	100	87	8	91	100	83	74	23	87	87
Crois. à 4°C	35	26	33	8	9	0	0	0	0	22	0	0	96	0	9	4	0	0
37°C	5	17	29	8	4	35	10	0	43	39	12	0	83	0	30	18	12	12
45°C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S°/∞ :	0	10	4	0	8	4	26	5	0	43	8	4	0	12	22	32	4	8
65	50	65	0	4	9	17	5	0	9	52	0	0	100	4	22	14	0	0
100	5	13	0	0	4	13	5	0	9	9	0	0	79	0	9	0	0	0
175	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
Ammonifiants	30	4	0	12	4	0	0	83	0	30	0	0	100	25	4	0	0	0
Dénitrifiants	80	35	62	83	41	56	85	21	78	96	42	87	46	37	82	64	100	96

	PROTEASE	AMYLASE	DNase	TWEEN 80 ESTERASE	UREASE	AGAROLYSE	ALGINASE	CELLULOSE	CHITINASE
EAU (22/1)	30	10	50	75	5	0	25	0	0
EAU (3/2)	30	43	65	91	17	0	0	0	35
EAU (29/3)	33	-	81	65	0	5	43	0	19
EPONGE 1	0	58	46	92	4	0	0	0	0
EPONGE 2	4	9	32	73	9	0	4	0	27
EPONGE 3	4	0	43	78	4	0	0	0	0
EPONGE 4	0	0	75	90	0	0	0	0	0
EPONGE 6	0	81	75	79	4	0	17	0	17
EPONGE 8	0	48	39	100	0	0	9	0	9
EPONGE 9	26	30	69	91	17	0	61	0	26
EPONGE 10	8	-	25	25	0	0	0	0	0
EC	0	0	29	100	0	0	0	0	0
AC	83	42	96	100	0	0	4	0	4
TU	0	37	50	79	0	0	4	0	0
BI	4	22	17	87	0	0	39	0	0
PA	4	36	9	91	0	0	0	4	0
PL	69	-	87	91	0	0	95	0	61
HO	12	-	46	58	0	12	87	12	12

Tableau 3 - Fréquence des souches productrices d'exoenzymes exprimées en pourcentage./Frequency of exoenzyme productive strains expressed in percentage.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette étude préliminaire met en évidence certaines potentialités des bactéries associées à des invertébrés benthiques. Les propriétés les plus intéressantes en vue d'une éventuelle exploitation biotechnologique concernent la production d'exoenzymes, de facteurs de croissance et d'antimétabolites, particulièrement pour les souches isolées des éponges dans ce dernier cas.

Ainsi les souches provenant des échinodermes (oursins communs et holoturies) paraissent les plus intéressantes vis-à-vis de la production d'hydrolases (protéase, alginase, agarolyse, chitinase, cellulase) mais on a trouvé également 81 % de souches amylolytiques chez l'éponge *Petrosia ficiformis*. Les bactéries isolées de l'actinie (*Actinia equina*) manifestent également des possibilités dans ce domaine avec 83 % de souches protéolytiques et

96 % dotées d'une DNase. Elles pourraient être également intéressantes pour la production de facteurs de croissance (100 % de souches prototrophes).

Au plan de la production d'antibactériens, c'est à partir des éponges que l'on recueille les souches les plus actives, même contre des agents pathogènes très résistants comme *Pseudomonas aeruginosa*. Il n'est pas impossible que les propriétés antimicrobiennes de certaines éponges soient liées, au moins en partie, à la sécrétion de ces substances par les bactéries associées.

Quoiqu'il en soit, et compte tenu de l'éventail des propriétés rencontrées ou de leur spécificité, il y a peut-être chez ces souches isolées de différents invertébrés marins des possibilités d'utilisation non négligeables qu'il conviendrait de mieux évaluer.

	P1	P2	P3
EAU (22/1)	70	70	75
EAU (03/2)	35	61	61
EAU (29/3)	24	43	48
EPONGE 1	75	83	83
EPONGE 2	59	64	64
EPONGE 3	35	52	65
EPONGE 4	85	90	90
EPONGE 6	83	83	83
EPONGE 8	35	39	39
EPONGE 9	48	56	65
EPONGE 10	0	0	0
EC	46	100	100
AC	100	100	100
TU	42	58	58
BIV	30	48	48
PA	68	73	77
PL	0	4,5	4,5
HO	4	12,5	12,5

BIBLIOGRAPHIE

□ Burlando B., M.A. Sabatini, E.Gaino, 1988 - Association between calcareous *Chlathrina cerebrum* (Haeckel) and bacteria : electron microscope study, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 116 : 35-42.

□ Escoubet P., F. Auscher, 1986 - Introduction à la toxicité des éponges en aquarium chez les poissons. *Vie Mar.*, 7 : 81-84.

□ Gaill F., D. Desbruyères, D. Prieur, A.M. Alayse-Danet, 1986 - Les relations d'un polychète avec ses bactéries épibiontes (*Alvinella pompejana*) des sources hydrothermales profondes. IFREMER, 2^e Colloque international de bactériologie marine, Brest, Actes de colloques, 3, 1986 : 401-406.

◀ Tableau 4 - Besoins en facteurs de croissance : fréquence (en %) des souches capables de cultiver sur les différents milieux : P1 : dépourvu de facteurs de croissance ; P2 : P1 enrichi en vitamines ; P3 : P1 enrichi en vitamines et acides aminés. / Necessity of growth factors : frequency (%) of strains able to grow on diverse culture media : P1 : unprovided with growth factors ; P2 : P1 + vitamins ; P3 : P1 + vitamins and amino acids.

Tableau 5 - Utilisation de certains toxiques organiques comme unique source de carbone et d'énergie (fréquence %). / Utilisation of few organical toxics as a unique source of carbon and energy (frequency %). ▼

	PHENYL CARBAMATE	ACIDE PHTALIQUE	PHENOL	ANILINE	LAURYL SULFATE	BENZENE SULFOMATE
EAU (22/1)	0	0	0	0	0	0
EAU (03/2)	0	0	0	0	35	39
EPONGE 1	0	0	0	0	17	0
EPONGE 2	0	0	0	0	32	0
EPONGE 3	0	0	0	0	4,3	0
EPONGE 4	0	0	0	0	10	20
EPONGE 6	0	0	0	0	0	0
EPONGE 8	0	0	0	0	0	4
EPONGE 9	0	0	4,3	0	48	35
EC	0	0	0	0	0	0
AC	0	0	0	0	8	0
TU	0	0	0	0	0	17
BIV	0	0	0	0	13	0
PA	0	0	0	0	41	0

BACTÉRIES D'INVERTÉBRÉS BENTHIQUES/BACTERIA FROM BENTHIC INVERTEBRATES

	% SOUCHES PRODUCTRICES	% INHIBITION SF	% INHIBITION EC	% INHIBITION PA	% INHIBITION SALM	% INHIBITION V.CHOL.	% INHIBITION V.ALG.	% INHIBITION V.ORD.
EAU (22/1)	15	0	15	0	0	0	0	0
EAU (03/2)	0	0	0	0	0	0	0	0
EAU (29/3)	0	0	0	0	0	0	0	0
EPONGE 1	37,5	12,5	4	21	37,5	37,5	0	21
EPONGE 2	28	0	0	0	28	0	0	28
EPONGE 3	43,5	35	13	0	13	43,5	9	13
EPONGE 4	75	20	0	0	20	20	0	75
EPONGE 6	4,3	0	4,3	0	4,3	0	0	4,3
EPONGE 8	22	0	0	0	0	13	9	0
EPONGE 9	13	0	0	0	13	0	0	13
EPONGE 10	10	10	10	10	0	0	10	10
EC	0	0	0	0	0	0	0	0
AC	0	0	0	0	0	0	0	0
TU	12,5	0	0	0	0	12,5	0	0
BIV	26	22	22	0	22	22	4,3	22
PA	0	0	0	0	0	0	0	0
PL	4,3	0	0	0	0	0	0	4,3
HO	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 6 - Proportion de souches produisant des antibactériens. Fréquences en %. Bactéries test : SF : E. faecalis ; EC : E. coli ; PA : P. aeruginosa ; SALM : Salmonella sp ; V. chol : V. cholerae Non O1 ; V. alg : V. alginolyticus ; V. ord : V. ordalii. Proportions of strains producing antibacterial compounds. Frequency %. Tests bacteria.

□ Gauthier M., 1970 - Propriétés antibactériennes des microorganismes marins. Thèse de doctorat. Université de Nice, 113 p.

□ Herndl G.J., B. Velimirov, 1986 - Role of bacteria in the gastral cavity of Anthozoa. IFREMER, 2e Colloque international de bactériologie marine, Brest, Actes de colloques, 3, 1986 : 407-414.

□ Martin Y.P., 1976. Importance des bactéries chez les mollusques bivalves - *Haliotis*, 1976-1978, volume 7 : 97-103.

□ Martin Y.P., M.A. Bianchi, 1980 - Structure, diversity, and catabolic potentialities of aerobic heterotrophic bacterial populations associated with continuous cultures of natural marine phytoplankton. *Microb. Ecol.*, 5 : 265-279.

□ Minale L., 1986 - Natural product chemistry in marine sponges. *Pure and Appl. Chem.*, 48 : 7-23.

□ Oppenheimer C.H., C.E. Zobell, 1952 - The

growth and viability of sixty three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *J. mar. Res.*, 11 : 11-18.

□ Prieur D., 1984 - Etude qualitative et quantitative des communautés bactériennes associées aux bivalves marins : comparaisons avec les microflore de l'eau et du sédiment. *In* : CNRS bactériologie marine, Marseille. Colloques internationaux du CNRS, 331 : 161-168.

□ Prieur D., 1989 - Deep-sea hydrothermal vents of the 13°N (East Pacific Rise) : preliminary bacterial survey and biotechnological potential. *In* : Microbiology of extreme environments and its potential for biotechnology. Da Costa, Duarte and Williams Eds., Elsevier Applied sciences, London and New York : 163-166.

□ Sharma G.M., P.R. Burkholder, 1967 - Studies on antimicrobial substances of sponges. I - Isolation, purification and properties of a new bromine-containing antibacterial substances. *J. Antibiot. Tokyo (Sr. A)*, 20 : 200-203.

- Sharma G.M., B. Vig, 1972 - Studies of the antimicrobial substances of sponges. VI - Structures of two antibacterial substances isolated from the marine sponge *Dysidea ferbacea*. *Tetrahedron Lett.*, 17 : 1715-1718.
- Simpson T.L., 1984 - The cell biology of sponges. *Springer Verlag*, New-York, 662 pp.
- Staley J.T., P.M. Staley, 1986 - Potential commercial applications in aquatic microbiology. *Microb. Ecol.*, 12 : 79-100.
- Thompson J.E., R.P. Walker, D.J. Faulkner., 1985 - Screening and bioassays for biologically-active substances from forty marine sponges species from San Diego, California, USA. *Marine Biol.*, 88 : 11-21.
- Thompson J.E., 1985 - Exudation of biologically-active metabolites in the sponge *Aplysina fistularis*. I - Biological evidence. *Marine Biol.*, 88 : 23-26.
- Vacelet J., 1975 - Etude en microscopie électronique de l'association entre bactéries et spongiaires du genre *Verongia* (Dictyocératidae). *Journal de Microscopie et Biologie cellulaire*, 23 : 271-288.
- Vianna Doria E., A. Bianchi, 1985 - Bactériologie des sédiments superficiels et des contenus de tractus digestifs d'invertébrés. *In* : Peuplements profonds du golfe de Gascogne, Laubier et Monniot (éd.), IFREMER, Brest, pp. 183-192.
- Walker R.P., J.E. Thompson, D.J. Faulkner, 1985 - Exudation of biologically-active metabolites in the sponge *Aplysina fistularis*. II - Chemical evidence. *Marine Biol.*, 88 : 27-32.
- Wilkinson C.R., R. Garrone, 1980 - Nutrition of marine sponges. Involvement of symbiotic bacteria in the uptake of dissolved carbon. *In* : Nutrition in the lower Metazoa., D.C. Smith and Y. Tiffon Eds., Pergamon Press, Oxford, U.K. : 157-161.