

DEGRADATION DES COMPOSES PHÉNOLIQUES PAR
DES MICROORGANISMES SYMBIOTES DU TERMITE
PSEUDACANTHOTERMES SPINIGER

A. M. N'GO-BIKOUE, A. BRAUMAN, C. ROULAND

*Laboratoire d'Ecophysiologie des Invertébrés, Université Paris XII-Val de Marne
94010-CRETEIL Cedex - France*

Résumé : La dégradation de composés aromatiques par le termite *Pseudacanthotermes spiniger* et sa microflore symbiotique a été étudiée. En culture liquide, *Termitomyces eurhizus*, symbiote de *P. spiniger*, est capable de minéraliser l'acide syringique et l'acide gallique, par contre aucune dégradation de l'acide férullique n'est observée. La microflore digestive dégrade l'ensemble des composés aromatiques testés aussi bien en aérobose qu'en anaérobose. Le seul polyaromatique testé, l'acide tannique, est dégradé aussi bien par le champignon symbiote que par la flore fermentaire du termite.

Mots clés : Termites, symbiose digestive, *Pseudacanthotermes spiniger*, *Termitomyces*, microflore digestive, composés aromatiques.

Abstract: Degradation of aromatic compounds by *Pseudacanthotermes spiniger* and its symbiotic microflora was investigated. *Termitomyces eurhizus*, symbiotic fungus of *Pseudacanthotermes spiniger*, in liquid medium mineralized syringic and gallic acids but not ferulic acid. Gut microflora degraded most of aromatic compounds in aerobic and anaerobic conditions. Tannic acid, polyaromatic compound, was degraded by symbiotic fungus but also by symbiotic microflora of the digestive tract.

Key words: Termites, digestive symbiosis, *Pseudacanthotermes spiniger*, *Termitomyces*, gut microflora, aromatic compounds.

INTRODUCTION

Les termites champignonnistes, largement répandus en Afrique, sont caractérisés par leur relation exosymbiotique avec un champignon du genre *Termitomyces* et la présence, dans leur tube digestif, d'une forte densité bactérienne. Cette double association permet à ces termites de minéraliser plus de 90% de la matière organique ingérée (Breznak et Brune 1994). Des travaux récents ont montré qu'à côté de la cellulose et des hémicelluloses, les composés végétaux aromatiques peuvent constituer une source de nourriture alternative pour ces termites (Mora 1997).

Cette étude a donc été réalisée pour déterminer quels composés aromatiques peuvent être dégradés par le termite *Pseudacanthotermes spiniger* et quel partenaire symbiotique est impliqué dans cette biodégradation.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel biologique : Les ouvriers de *Pseudacanthotermes spiniger* proviennent des champs de canne à sucre de la SARIS (Vallée du Niari, Congo).

Techniques de cultures :

- *Termitomyces eurhizus*, le champignon symbionte de *P. spiniger* est cultivé sous agitation dans un milieu minéral de Raulin selon une technique déjà décrite (Ikhouane, 1995).

- Les cultures bactériennes sont réalisées en anaérobiose, suivant la technique de Hungate modifiée, et en aérobiose, dans des erlenmeyers, à partir de broyats de tubes digestifs entiers (Miller et Wolin, 1974).

Substrats de croissance : Les composés aromatiques utilisés sont tous des produits modèles de la dégradation des composés polyaromatiques végétaux types tanins (acides tannique et gallique) ou lignine (acides férullique, vanillique, syringique et coumarique).

Numération bactérienne : La numération bactérienne des différentes parties du tube digestif du termite a été faite par la méthode du nombre le plus probable (NPP) sur un milieu de culture contenant un des composés aromatiques comme seule source de carbone (Genthner *et al.*, 1981).

Chromatographie : Les analyses des composés intermédiaires ont été réalisées par chromatographie sur couche mince ou en HPLC. Pour les analyses en chromatographie liquide, la technique suivie est celle décrite par Tomasi (1993). La chromatographie couche mince a été effectuée selon la méthode décrite par Kumholz *et al.* (1987).

RÉSULTATS

Dégradation des composés aromatiques par des cultures du champignon symbionte *T. eurhizus* et la microflore intestinale

Tableau 1 : Évaluation de la dégradation en culture liquide des différents composés aromatiques

Table 1: Estimate of aromatic compounds degradation in liquid medium

	Champignon (fungus)	Broyats de tube digestif (crushed gut)
Syringate	+	+
Ferullate	-	+
Coumarate	-	+
Vanillate	-	+
Gallate	+	+
Acide tannique	+	+

Légendes:

+: 90% du substrat dégradé en 5 jours de culture (90% of degradation in 5 days of culture)

-: aucune dégradation observée (no degradation in culture)

Mesures effectuées par HPLC à partir d'échantillon de culture liquide aérobie (aerobic liquid samples analysed by HPLC)

Sur les six composés testés, seuls le syringate, le gallate et l'acide tannique permettent la croissance du champignon. Le suivi en HPLC de l'évolution du substrat au cours de la culture indique une hydrolyse rapide de ces trois acides : plus de 90% du substrat est dégradé en 5 jours. Cette dégradation s'accompagne d'un changement de couleur des milieux de culture : le milieu de culture avec le syringate devient rapidement rouge violacé et le reste jusqu'à la fin de culture alors que les milieux avec les acides gallique ou tannique s'assombrissent mais ne prennent pas de teinte rougeâtre. Plus les milieux deviennent colorés plus le taux de dégradation est important.

La microflore intestinale du termite est capable d'hydrolyser l'ensemble des composés aromatiques testés en aérobiose.

Numération bactérienne sur différents composés aromatiques (Figure 1a et 1b).

Dans l'intestin moyen comme dans l'intestin postérieur, il existe une importante population bactérienne (de 10^9 à 10^{11} bactéries/ml éq. de tube digestif) susceptible de se développer sur un milieu comportant des composés aromatiques comme seule source de carbone. Quelle que soit la portion d'intestin considérée, cette dégradation peut s'effectuer aussi bien en anaérobiose qu'en aérobiose. Seul l'acide syringique apparaît plus hydrolysé dans la panse en anaérobiose.

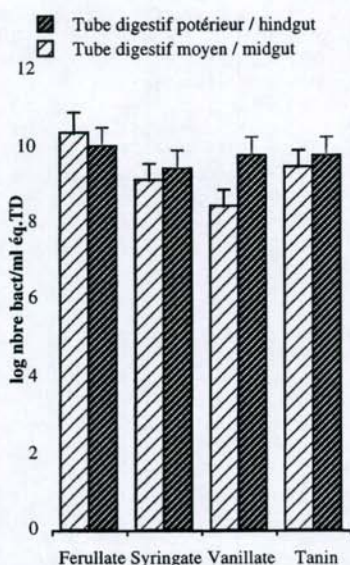


Figure 1a: Numération de la flore bactérienne intestinale aérobie du *Pseudacanthotermes spiniger*

Figure 1a: Aerobe gut bacteria estimation of *Pseudacanthotermes spiniger*

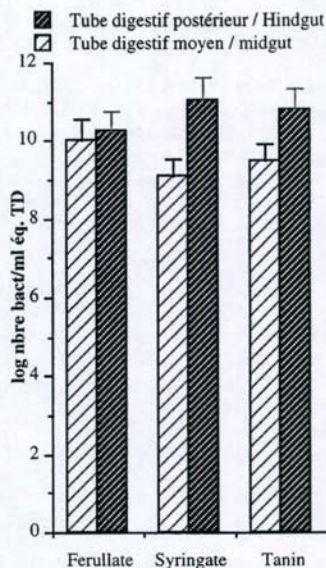


Figure 1b: Numération de la flore bactérienne anaérobie du *Pseudacanthotermes spiniger*

Figure 1b: Anaerobe gut bacteria estimation of *Pseudacanthotermes spiniger*

DISCUSSION

La dégradation de la lignine par les champignons est très souvent l'oeuvre des champignons de pourritures blanches mais cependant des dérivés monoaromatiques à faible poids moléculaire peuvent être aussi attaqués par d'autres champignons (Jokela *et al.*, 1987; Pelaez *et al.*, 1995), des levures ou des bactéries (Ruel et Barnoud 1985 ; Breznak et Brune, 1994).

T. eurhizus présente de fortes capacités d'hydrolyse des acides syringique, gallique et tannique qui sont dégradés à 90% après 5 jours de culture. Ses capacités de dégradation sont donc limitées aux seuls composés trisubstitués, substrats moins résistants à la biodégradation que les mono ou disubstitués (Bergbauer, 1991).

L'apparition d'une coloration rouge dans le milieu après croissance du champignon sur acide syringique est à mettre en relation avec la production de composés intermédiaires quinones (Cheftel *et al.*, 1990).

L'importante flore bactérienne intestinale montre, par contre, des capacités de biodégradation en aérobiose de tous les composés phénoliques testés: mono, di, et trisubstitués. La flore anaérobique montre aussi une capacité dégradative importante sur les trois seuls composés testés: syringate, ferullate et tannin.

Ces résultats posent le problème, chez les Macrotermitinae, du rôle respectif des différents partenaires de la symbiose pour la dégradation des composés aromatiques végétaux. En effet, il peut paraître surprenant que le champignon symbionte et la microflore anaérobique de la panse dont on ne peut mettre en doute le caractère symbiotique, présentent tous deux de fortes capacités d'hydrolyse des mêmes composés aromatiques à savoir les acides syringique et tannique. Cependant, il est important de préciser que les substrats utilisés dans ce travail sont des composés monomériques modèles rares dans la nature. La symbiose tripartite observée chez ces termites pourrait peut-être trouver son application dans la dégradation des composés complexes naturels comme la lignine et les tanins. Les produits de dégradation de ces composés complexes étant difficiles à étudier par les techniques de chromatographie classique, seule l'utilisation de composés marqués pourrait nous permettre d'apporter de nouveaux éléments pour comprendre les mécanismes de la symbiose digestive chez ces insectes.

RÉFÉRENCES

- Bergbauer, M., 1991. Degradation and oligomerization of syringic acid by distinctive ecological groups of fungi. *Microbiol. Ecol.* 21:73-84
- Breznak, J. A. and Brune, A., 1994. Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by Termites. *Annu. Rev. Entomol.* 39:453-487.
- Cheftel, J.C., Cheftel, H. and Besançon, P., 1990. Introduction à la biochimie et la technologie des aliments. Lavoisier Ed, Paris, 132p.
- Ikhouane, A., 1995. Étude de la biodégradation de polymères végétaux par des champignons du genre *Termitomyces* symbiontes de termites. Thèse de l'Un. Paris XII, 170p.
- Jokela, J., Pellinen, J. and Salkinoja-Salonen, M., 1987. Initial steps in the pathways for bacterial degradation of two tetrameric lignin model compounds. *Appl. Env. Microb.* 53:2642-2649.
- Genthner, B. R. S., Davis, C. L. and Bryant, M. P., 1981. Features of rumen and sewage sludge strains of *Eubacterium limosum*, a methanol and H₂-CO₂ utilising species. *Appl. Env. Microbiol.* 42:12-19.
- Krumholz, L. R., Crawford, R. L., Hemling, M. E. and Bryant, M. P., 1987. Metabolism of Gallate and Phloroglucinol in *Eubacterium oxidoreducens* via 3-Hydroxy-5-oxohexanoate. *J. of Bacteriol.* 169:1886-1890.
- Miller, T. C. and Wolin, M. J., 1974. A serum bottle modification of hungate technique for cultivating obligate anaerobes. *Appl. Microbiol.* 27:985-987.
- Mora, P., 1997. Recherche d'enzymes intervenant dans la dégradation de la lignine chez plusieurs espèces de termites à régimes alimentaires différents. *Colloque Insectes Sociaux*, U. Paris XII, 3/5 septembre.
- Pelaez, F., Martinez, M. J. and Martinez, A. T., 1995. Screening of 68 species of basidiomycetes for enzymes involved in lignin degradation. *Mycol. Res.* 99: 37-42
- Ruel, K. and Barnoud, F., 1985. Degradation of wood by microorganisms: In *Biosynthese and degradation of wood components*. Ed. Takayoshi Higuchi, Academic Press. 99:469-503.
- Tomasi, I., 1993. Dégradation des composés aromatiques halogènes par *Pseudomonas cepacia* AC1100. Thèse de l'INA PG, 142p.