
This paper is not to be cited without prior reference to the author.

NITRIFICATION DANS L'ESTUAIRE DE L'ESCAUT. DENOMBREMENT DES

BACTERIES NITRIFIANTES.

(Campagnes de mai, juin et septembre 1973)

par Gilles BILLEN

Lab. de Chimie Industrielle (ULB) et

Lab. voor Ekologie en Systematiek (VUB).

Le dosage de l'ammonium, des nitrates et des nitrites dans l'estuaire de l'Escaut a permis de mettre en évidence l'existence d'une intense activité de nitrification dans les zones où les conditions physico-chimiques du milieu la permettent (voir technical reports précédents).

La "modélisation" de cette activité nécessite la connaissance de la répartition des agents responsables, les bactéries nitrifiantes. Ce rapport présente les premiers résultats relatifs au dénombrement des bactéries nitrifiantes autotrophes dans l'eau de surface de l'estuaire (campagnes du 14 au 16 mai, du 18 au 20 juin et du 17 au 19 septembre).

METHODES:

Principe: une aliquot de 5 ml et 5 aliquot de 0.5 et 0.05 ml d'eau de surface sont dilués dans un milieu d'enrichissement convenant à la croissance des bactéries nitrifiantes (milieu purement minéral contenant 40 mM/l d' NH_4^+). L'apparition, après incubation à l'obscurité, de nitrite dans le milieu, indique la présence dans l'aliquot de départ d'au moins un germe nitreux. L'analyse statistique des résultats permet alors de déterminer le nombre le plus probable de germes par unité de volume.

Milieu d'enrichissement: le milieu utilisé est essentiellement le milieu original proposé par Winogradski:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1.32 g
K_2HPO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.3 g
NaCl	2 g (milieu d'eau douce)
	33 g (milieu marin)
CaCO_3	<u>précipité</u>
eau distillée	1000 ml.

On y a ajouté 1 ml d'une solution de métaux en trace (Carlucci et Strickland, J. exp. mar. Biol. Ecol., 2, 156):

$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0.004 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.004 g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.0 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.3 g
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.6 g
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.2 g
EDTA	<u>6 g</u>
eau distillée	1000 ml.

Le pH est ajusté à 7.5 par NaOH.

Mise en évidence des nitelles formés: à intervalle régulier (environ toutes les semaines), une goutte de milieu est prélevée stérilement et étendue sur un papier indicateur de nitrites (Merckquant nitrite-test, sensible à 0.3 mg/l): une couleur rouge indique une nitrification.

Calcul du nombre le plus probable: si les gonnes sont répartis en solution selon une distribution de Poisson, la probabilité pour qu'une aliquote de volume v en contienne k est $p(k) = e^{-m} \frac{m^k}{k!}$ (où m est le nombre moyen de gonnes dans le volume v).

La probabilité qu'une aliquote ne contienne pas de gonnes peut donc être utilisée comme une mesure de ce nombre moyen: $p(0) = e^{-m}$.

Sur 5 dilutions d'un échantillon:

+++++	$p(0) \geq 4/5$	$m \geq 1.6$
++++-	$1/5$	1.6
+++--	$2/5$	0.91
++---	$3/5$	0.51
+----	$4/5$	0.22
-----	$5 \leq 4/5$	< 0.22

RESULTATS.

1. Un exemple typique de résultats expérimentaux est reproduit ici à titre d'exemple:

station	date du contrôle	aliquot 5cc	0.5 cc					0.05 cc						
			1	2	3	4	5	1	2	3	4	5		
25 (14.5.73)	23.5	+												
	30.5	+	-	-	-	-	-							
	15.6		+	+	+	+	+	-	-	+	-	-		
	22.6							-	-		-	-		
	3.7							-	-		-	-		

nombre le plus probable: 0.22 dans 0.05 cc
soit 4 400 bactéries nitreuses par litre.

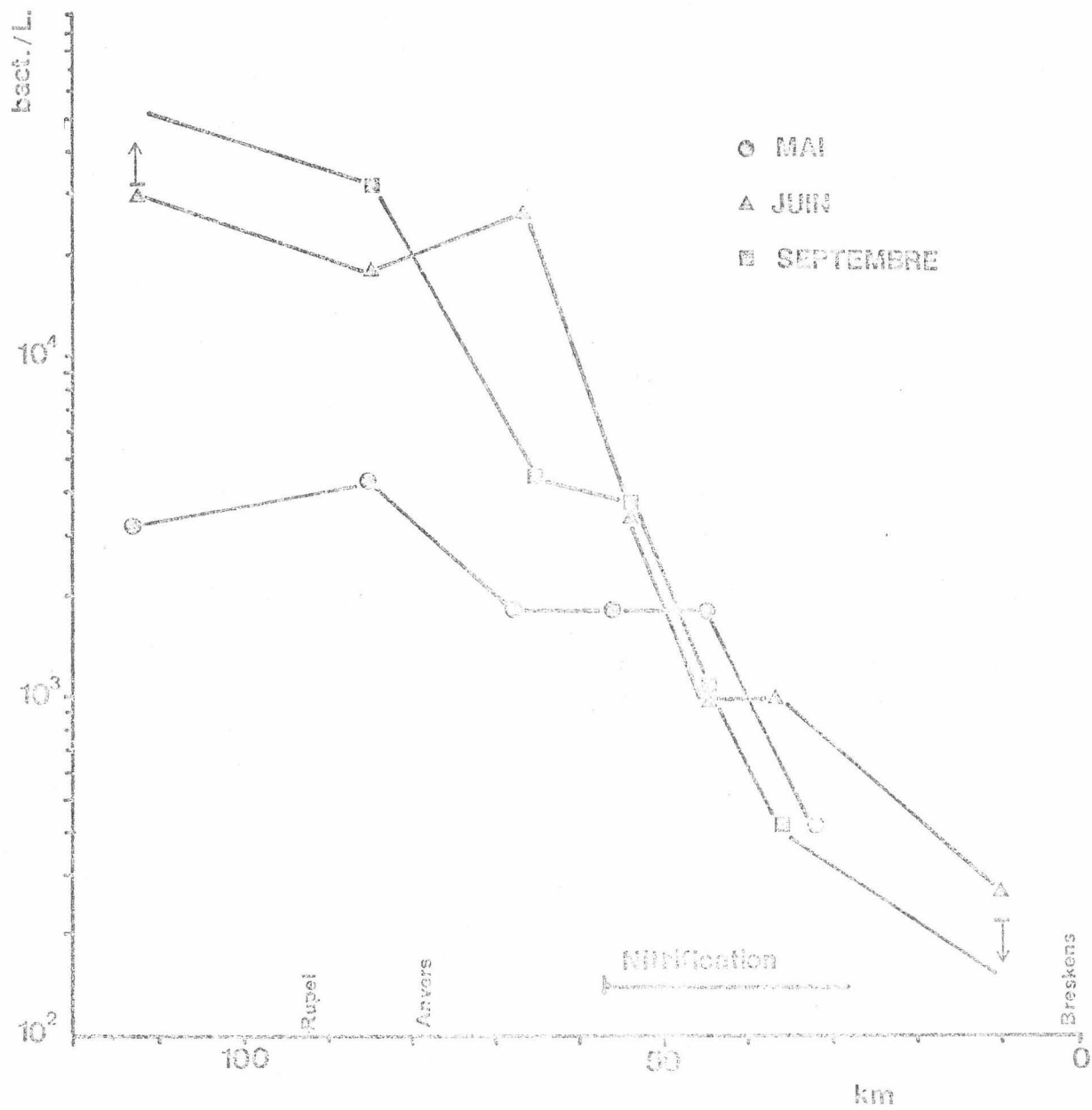
2. Les nombres de bactéries nitreuses évalués par cette méthode en certains points du profil longitudinal de l'estuaire sont représentés dans la figure 1, pour les croisières de mai, juin et septembre. Tous ces nombres ont été obtenus avec le milieu d'enrichissement d'eau douce (2% NaCl).

Lors de la croisière de septembre, le comptage a été réalisé parallèlement avec le milieu salé (33% NaCl): après plus d'un mois d'incubation, aucun résultat positif n'a été enregistré.

DISCUSSION.

1. Les profils du nombre de bactéries nitreuses en fonction de la distance à l'embouchure (Fig.1) montrent une diminution régulière de l'amont vers l'aval, à partir d'environ 85 km de l'embouchure. Il est particulièrement frappant que la zone de nitrification (km 60 à 30 env.) ne soit pas marquée par un maximum de bactéries nitrifiantes.

2. La distinction entre bactéries nitrifiantes d'eau douce et d'eau de mer a été établie par S.V. Watson (1953) (In C.H. Oppenheimer, symp. Mar. Microbiol., C.C. Thomas, éd) qui a montré notamment que Nitrosomonas europaea et Nitrobacter agilis ne se développent que lentement et jamais de façon prolongée en milieu salé (25 ‰ NaCl), tandis que les bactéries nitrifiantes marines ne se maintiennent pas en eau douce.



Le fait que nos dilutions-enrichissements en milieu salé ne donnent aucun résultat positif indique:

- que les bactéries nitreuses énumérées en milieu non salé sont des bactéries terrigènes, incapables de se développer en milieu marin;
- que l'eau de l'estuaire ne renferme pas de population importante de bactéries nitrifiantes marines.

3. conclusion: Les bactéries nitrifiantes présentes dans l'eau de l'estuaire de l'Escaut sont donc des bactéries d'origine terrigène, et sont charriées par le fleuve d'amont en aval sans qu'elles ne se multiplient de façon importante,

- en amont de la zone de nitrification parce que les conditions d'oxydo-réduction ne leur permettent aucune activité métabolique,
- dans la zone de nitrification, parce que la salinité ralentit leur croissance:

Watson (ref. cit.) indique en effet que le temps de doublement de *Nitrosomonas europaea*, de 1 jour en eau douce, passe à plus de 8 jours dans un milieu contenant 25 ‰ NaCl (la croissance ne pouvant en outre se maintenir plus de 5 générations). Or, dans la zone de nitrification, le profil de salinité montre qu'une masse d'eau est diluée de moitié dans l'eau de mer en 5 à 7 km, soit en quelque 20 à 30 heures. (R. Wollast, circulation, accumulation et bilan de masse dans l'estuaire de l'Escaut: Rapport de synthèse, projet mer 1972)

Bien que manifestent dans cette zone une activité métabolique, les bactéries nitrifiantes sont donc diluées presque passivement dans l'eau de mer. Ceci peut expliquer le fait que l'activité nitrifiante diminue considérablement et ne se manifeste pratiquement plus dans les 30 derniers km avant l'embouchure, bien que la concentration en substrat (NH_4^+) soit encore élevée et que les conditions physico-chimiques soient favorables.