

C 22814

Ac

UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN

FACULTE DES SCIENCES

**APPROCHE D'UNE ECOLOGIE MICROBIENNE
DE LA ZONE LITTORALE BELGE**

**DETERMINATION DES BACTERIES AEROBIES
HETEROTROPHES MESOPHILES**

Dissertation doctorale présentée
par

Zima DARTEVELLE - MOUREAU

pour l'obtention du grade
de Docteur en Sciences

LOUVAIN - LA - NEUVE

I.R.Sc.N.B.-K.B.I.N.



0095BOB

C 22814

Octobre 1975

C 22814

UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN

FACULTE DES SCIENCES

**APPROCHE D'UNE ECOLOGIE MICROBIENNE
DE LA ZONE LITTORALE BELGE**

**DETERMINATION DES BACTERIES AEROBIES
HETEROTROPHES MESOPHILES**

Dissertation doctorale présentée
par

Zima DARTEVELLE - MOUREAU

pour l'obtention du grade
de Docteur en Sciences

LOUVAIN - LA - NEUVE

Octobre 1975

K.B.I.N.-I.R.Sc.N.B.



0095B0B

C 22814

"Au-delà de toutes choses, s'étend l'océan"

Sénèque

A mon mari

A mes enfants Jean et Michèle

Monsieur le Professeur A. CAPART, Directeur de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Professeur à L'Université Catholique de Louvain, a bien voulu assurer la direction de cette dissertation.

Sa contribution à notre formation biologique nous a encouragée à poursuivre une carrière de recherche tandis que l'aide scientifique et matérielle qu'il nous a accordée avec tant de bienveillance, nous a permis de mener à bien cette étude.

Nous tenons à lui en exprimer notre profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur J. BRISOU, Agrégé du Service de Santé de la Marine, Agrégé des Facultés de Médecine, Professeur de Microbiologie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Poitiers, Docteur ès Sciences Naturelles, Expert à l'Organisation Mondiale de la Santé, nous a fait l'honneur de s'intéresser à nos travaux.

Malgré ses multiples obligations tant sur le plan national que sur le plan international, il nous a toujours accueillie avec une disponibilité délicate doublée d'une très grande simplicité. À de nombreuses reprises, il nous a aidée de ses précieux conseils et nous a permis d'élargir considérablement le champ de notre travail.

Qu'il veuille bien trouver, ici, l'expression de notre admiration et de notre respectueuse gratitude.

Messieurs les Professeurs J. DEMAL, B. LATTEUR et Ph. LEBRUN ont été nos Professeurs à la Faculté des Sciences de l'Université Catholique de Louvain.

La valeur de leur enseignement et l'exemple qu'ils nous ont toujours donné d'un travail scientifique rigoureux et dés-

intéressé, ont été pour nous un encouragement à la découverte scientifique. Chaque fois que nous les avons sollicités, nous avons pu bénéficier de leur grande expérience et apprécier leurs qualités humaines et scientifiques. Nous tenons à leur exprimer nos sentiments de respect et de gratitude.

Nos remerciements vont aussi à Mademoiselle E. PEETERS et au Personnel du Laboratoire d'Océanographie Physique de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique à qui nous devons beaucoup; nous ne pouvons l'oublier.

Notre reconnaissance s'adresse également et particulièrement à chacun des Membres du Personnel Scientifique de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique qui, d'une manière ou d'une autre, ont été associés à nos travaux, à Monsieur M. TUFFRAU, Maître de Recherche au Centre National de la Recherche Scientifique, à Messieurs Y. ROMMELAERE et L. DE VRIENDT du Laboratoire de Chimie de l'Ecole Technique Supérieure d'Oostende.

Leur aide et leurs conseils nous ont été précieux. Qu'ils trouvent, ici, l'expression de nos remerciements pour cette coopération et pour l'exemple qu'ils nous ont ainsi donné d'une franche et loyale collaboration, base indispensable de tout travail scientifique de valeur.

Merci enfin à tous ceux qui, à un titre ou à un autre, nous ont apporté leur aide avec beaucoup de compétence et, toujours, avec une extrême amabilité.

Parmi eux, il nous est agréable de mentionner tout spécialement notre fidèle préparatrice, Madame M. CANON, pour le soin méticuleux qu'elle a apporté et le dévouement dont elle a fait preuve dans les divers et souvent fastidieux travaux de laboratoire.

P L A N D E L A D I S S E R T A T I O N

1. INTRODUCTION	1
2. HISTORIQUE DE LA BACTERIOLOGIE	
2.1. - La Bactériologie en général	5
2.2. - La Bactériologie marine	8
2.3. - La Bactériologie en Belgique	12
2.4. - La Bactériologie des sédiments	15
2.5. - La Bactériologie littorale	17
3. BIOTOPE ETUDIE	
3.1. - Localisation de la zone littorale étudiée	20
3.2. - Dimension et composition du sable	24
3.3. - Eau interstitielle	26
3.4. - Modes de prélèvements	28
3.5. - Paramètres mesurés (pH , O_2 , T° , NaCl , PO_4 , NO_2 , NO_3 , SO_4 , C/N)	30
4. BIOCENOSE MICROBIENNE	
4.1. - Microflore	74
4.2. - Mycoflore	77
4.3. - Microfaune	80
4.4. - Faune infusorienne	84
5. RECENSEMENT DES BACTERIES AEROBIES HETEROTROPHES MESOPHILES	
5.1. - Choix de la méthode	104
5.2. - Principes de l'analyse enzymatique	108
5.3. - Techniques de l'analyse enzymatique	113
5.4. - Résultats globaux	136
5.5. - Résultats spécifiques	141
6. GROUPES BACTERIENS SPECIAUX	
6.1. - Bactéries autotrophes. Photosynthèse bactérienne	264
6.2. - Bactéries fixatrices d'azote atmosphérique	271

6.3. - Bactéries anaérobies	275
6.4. - Actinomycètes	282
7. CONCLUSION GENERALE	285
RESUME	297
BIBLIOGRAPHIE	298

1. INTRODUCTION

A première vue, il peut sembler inadéquat de qualifier d'écologique un travail qui porte principalement sur le recensement des bactéries du sable littoral belge.

L'écosystème intertidal, dans son ensemble, mérite en fait une grande attention mais il est évident que son étude complète ne peut être réalisée par une seule et même personne. Si la nécessité est apparue aux biologistes d'intégrer leurs relevés descriptifs dans une étude plus globale des phénomènes écologiques, une synthèse satisfaisante ne peut se faire qu'après la mise en commun des données recueillies par chacun des spécialistes d'une équipe.

Il faut néanmoins considérer, avec Harold BARNES (1971), que "la claire expression de l'importance de la systématique, l'impérieuse nécessité de voir et d'examiner les organismes avant de tirer des conclusions à leur sujet, sont les fondements d'une bonne écologie et tout écogiste, dans quelque discipline que ce soit, ne l'ignore qu'à ses risques et périls".

Le recensement bactérien des sables nous a donc paru une première démarche indispensable. En effet, d'un point de vue bactériologique, ce milieu est mal connu et est considéré, à tort, comme peu peuplé en profondeur alors que les espèces bactériennes adaptées à ce biotope se sont révélées aussi nombreuses qu'inattendues.

Cependant, la conscience écologique qui s'impose actuellement à l'esprit de tout biologiste nous aurait reproché de considérer trop exclusivement le peuplement bactérien sans tenir compte des phénomènes qui le maintiennent en équilibre.

En conséquence, nous avons entrepris une "prospection" tant au niveau de certains paramètres physico-chimiques du milieu qu'à celui des éléments microbiens qui l'habitent.

Ce travail peut être schématisé de la façon suivante :

Après une revue des travaux parus sur la bactériologie de la mer et des sédiments, nous localisons d'abord le biotope, nous

analysons les éléments qui le composent et nous définissons les paramètres physico-chimiques.

Nous passons alors rapidement en revue la microflore et la microfaune en portant une attention spéciale à la faune ciliée. Ensuite, nous nous étendons plus longuement sur les techniques de mise en évidence et la détermination des bactéries aérobies hétérotrophes mésophiles qui peuplent ce milieu. En effet, les études sur la détermination systématique des bactéries littorales, principalement en ce qui concerne les germes de profondeur, sont pratiquement inexistantes. Il s'agit là d'une lacune qu'il nous a paru utile de combler avant que soient entreprises des analyses plus détaillées sur le rôle écologique de chacun des groupes bactériens. Cette détermination constitue le but principal de notre travail qui sera précédé d'un comptage total des germes.

Pour terminer, nous accordons une certaine attention aux groupements bactériens spéciaux que sont les autotrophes, les photosynthétiques, les fixateurs d'azote atmosphérique, les anaérobies et les actinomycètes qui, tous, sont présents dans cette biocénose.

En conclusion, nous faisons la synthèse de nos diverses observations.

Certains de ces chapitres sont nécessairement sommaires mais ils ouvrent de vastes perspectives d'investigations futures.

2. HISTORIQUE DE LA BACTERIOLOGIE

2.1. LA BACTERIOLOGIE EN GENERAL

La découverte des micro-organismes par VAN LEEUWENHOEK au 17ème siècle suit de près l'invention par VAN HOOKE du premier microscope. La croyance en la génération spontanée garde cependant ses adeptes jusque vers 1860, époque des célèbres travaux de PASTEUR sur la fermentation. Ce savant met au point les techniques fondamentales de culture et d'isolement de micro-organismes, techniques qui sont ensuite développées et améliorées par KOCH et ses élèves.

En 1884, GRAM invente la technique de coloration bactérienne qui porte son nom. PETRI, élève de Koch, imagine la boîte de culture, toujours utilisée à l'heure actuelle.

A cette époque, les organismes vivants sont classés suivant le système de nomenclature établi par LINNE en 1735 dans son "Systema Naturae". Les micro-organismes, situés à mi-chemin entre les plantes et les animaux, ne pouvaient trouver leur place dans un tel système.

En 1866, HAECKEL propose de leur assigner une nouvelle place dans ce qu'il nomme le règne des protistes, incluant les bactéries et les algues bleues (qu'il croyait non nucléées) parmi les protistes inférieurs.

Nous appelons maintenant "Procaryotes" ces organismes qui en fait sont dépourvus de membrane nucléaire, de mitochondries, de plastes et de mécanismes mitotiques tels qu'en connaissent les Eucaryotes.

Vers la fin du 19 ème siècle, la démonstration péremptoire de l'origine microbienne de la maladie du charbon fixe rapidement l'attention sur l'étude des microbes pathogènes, agents de maladies infectueuses; dès lors, la bactériologie médicale prend son essor.

La pathologie végétale, à son tour, retient l'attention des chercheurs tandis que WINOGRADSKY et BEIJERINCK notent l'im-

portance primordiale du rôle joué par les micro-organismes dans le cycle de la matière.

Les applications industrielles et économiques se font nombreuses. Citons à titre d'exemples la fermentation alcoolique, la fabrication des yaourts, la production d'antibiotiques et de vitamines, le traitement des eaux, etc...

Enfin, au cours des dernières décennies, les bactéries grâce à leur rapide taux de croissance et de multiplication, servent de sujet d'étude dans la plupart des laboratoires de biochimie où les spécialistes étudient les mécanismes de la croissance et du métabolisme cellulaire, de la biosynthèse et de la photosynthèse en même temps qu'ils y poursuivent des recherches sur la structure moléculaire des constituants nucléaires ou protéiques.

2.2. LA BACTERIOLOGIE MARINE

A son tour, la microbiologie marine attire l'attention des chercheurs. Dès 1936, aux U.S.A., ZOBELL et ANDERSON s'intéressent à la flore bactérienne des sédiments, ensuite au "fouling" des surfaces immergées, à la formation du pétrole par les micro-organismes, au cycle marin de l'azote, du soufre, du phosphore etc...

C'est ZOBELL (1946) qui écrit le premier traité de bactériologie marine et qui, avec ses collaborateurs, réalise les premières synthèses microbiennes d'hydrocarbures.

En U.R.S.S., l'essor est donné principalement par KRISS (1959) tandis que, plus proche de nous, PREVOT crée le premier centre de bactériologie marine de France. Il est bientôt secondé par BRISOU que PREVOT, en 1958, cite comme "le bactériologiste français qui connaît le mieux la bactériologie marine". En 1955, BRISOU publie un traité de bactériologie marine qui fait toujours autorité. Il s'intéresse à l'hygiène des fruits de mer et des plages, aux Enterobacteriaceae, aux Pseudomonadaceae, aux bactéries halophiles, aux enzymes bactériennes etc...

Les applications de la bactériologie marine sont nombreuses et variées : problèmes de corrosion, nutrition du plancton et du microbenthos et son incidence sur les pêches, recherche de souches d'intérêt industriel ou thérapeutique, problèmes de détoxication, rôle de transport des métaux lourds etc...

Les problèmes de corrosion suscitent un grand intérêt du fait de leur impact économique. Les bactéries sont en effet les premières à se fixer sur les coques de navires et les substrats immergés. Elles y forment un film protecteur sur lequel pourront se développer ultérieurement les organismes sessiles.

La fabrication de peintures adéquates empêchant cette première fixation, est un problème de grande importance pour les pêcheurs, les armateurs, les responsables d'installations portuaires, etc...

La nutrition des animaux filtreurs et celle d'une partie de la faune zooplanctonique (occasionnellement par l'intermédiaire des protozoaires) est largement dépendante de la prolifération bactérienne. La taille des moules, par exemple, dépend de la qualité nutritive des eaux. Nous avons personnellement observé les mollusques les plus représentatifs dans les parcs de culture situés dans la baie de Naples, à proximité des embouchures d'égouts de la ville. Fournir à ces animaux une nourriture bactérienne abondante mais dépourvue de germes pathogènes, serait un objectif hautement souhaitable.

Dans cette même perspective, une action visant à la prolifération du zooplankton microphage, contribuerait à intensifier la productivité des pêcheries.

Cette source nutritive, basée sur les bactéries, a été envisagée en vue de résoudre le problème de la faim qui se pose avec une acuité particulière dans le monde d'aujourd'hui. PREVOT (1958) nous rappelle que les protéines bactériennes contiennent les 13 acides aminés nécessaires à la nutrition des mammifères. Les bactéries possèdent aussi les vitamines dont notre organisme a perdu le pouvoir de synthèse. Considérant qu'elles peuvent se diviser toutes les 20 minutes (certaines bactéries marines, plus rapidement encore), nous voyons, par un rapide calcul, qu'après 48 heures, on aboutirait à 2^{144} individus ce qui, compte tenu de leur poids, correspond à 10^{25} tonnes de matière. Cette multiplication est irréalisable pour diverses raisons bien évidentes mais nous pouvons ainsi imaginer la potentialité extraordinaire des micro-organismes.

Dans le même ordre d'idées, rappelons que beaucoup d'entre ceux-ci contribuent à la synthèse de matières organiques par leur capacité de fixer l'azote atmosphérique ainsi que d'opérer la photosynthèse et la chimiosynthèse.

Le principal rôle des bactéries marines est évidemment de décomposer les résidus animaux et végétaux, de les reminéraliser afin de les rendre disponibles pour le phytoplancton, ainsi que de transformer la matière organique soluble en nouvelle matière particulaire sous forme de corps bactériens.

Nous n'ignorons plus le rôle qu'elles ont joué, depuis les temps géologiques, dans la formation des dépôts de salpêtre, de soufre, de manganèse, de pétrole, etc...

Leur capacité de solubiliser les métaux a été mise à profit dans des applications industrielles et bien d'autres possibilités pourraient être envisagées.

Elles sont utilisées aussi en tant que digesteurs de boue dans les stations d'épuration et leur rôle possible dans la détoxication métallique des eaux de mer a été considéré plus en détail dans notre thèse annexe : "Le rôle des bactéries dans le cycle des métaux lourds. Cas particulier du zinc.".

Ces quelques considérations ne présentent que certains aspects des multiples possibilités offertes à notre champ d'investigations. La biologie est la science de l'avenir; nous sommes loin d'en avoir épuisé toutes les ressources et la bactériologie marine est particulièrement prometteuse de découvertes aussi utiles que spectaculaires.

2.3. LA BACTERIOLOGIE EN BELGIQUE

En Belgique, le problème de la bactériologie marine n'a pratiquement été abordé qu'en fonction de la corrosion ou de l'hygiène des plages et des eaux côtières.

Les recherches effectuées au cours des dix dernières années ont d'ailleurs contribué à une meilleure connaissance de notre environnement littoral dans le domaine des pollutions bactériologiques.

En 1964, PERSOONE entreprend une série d'études sur les bactéries marines. Il s'intéresse principalement aux bactéries contaminant les surfaces.

En 1966, LELOUP et POLK effectuent des observations sur la salissure dans le port d'Oostende.

En 1968, PERSOONE et DE PAUW publient une étude sur la pollution du port d'Oostende.

En 1970, KUFFERATH contrôle la qualité des eaux côtières durant la période estivale.

En 1971, DARTEVELLE examine les corrélations possibles entre les pollutions bactériologiques et différents paramètres physico-chimiques tandis que BARBETTE, dans le cadre du Programme National d'Etude de l'Environnement Physique et Biologique "Projet Mer du Nord" fait l'évaluation des populations bactériennes en mer.

En 1972, dans la continuité de ce même programme, POLK, DE CONINCK, BOUQUIAUX et HERMAN effectuent, entre autres travaux, des dénombremens de bactéries en mer, dans les eaux côtières, dans les sédiments et dans l'estuaire de l'Escaut. Durant la même année, PINON entreprend des recherches sur les pollutions bactériologiques le long de la côte belge, tandis que PODAMO participe à l'étude biologique et biochimique du bassin de chasse et du port d'Oostende.

En 1973, LAFONTAINE et al. font part des résultats de 20 années d'investigations sur la pollution bactérienne des eaux de mer littorales, tandis que DARTEVELLE publie des considérations sur l'état bactériologique de quelques plages belges.

En 1974, DARTEVELLE et al. étudient au moyen d'un colorant, la diffusion et la migration de l'eau polluée au départ d'un rejet d'égout situé sur une plage belge. Ce travail mentionne accessoirement un relevé des concentrations bactériennes d'origine fécale de part et d'autre du rejet.

En 1975, DARTEVELLE et DESMET publient 3 notes portant sur la recherche des *Shigella* en mer et dans le chenal de Nieuwpoort.

2.4. LA BACTERIOLOGIE DES SEDIMENTS

A leur tour, les sédiments marins sont étudiés par les bactériologistes.

Beaucoup de travaux sont consacrés au rôle des bactéries dans la transformation et le recyclage des minéraux. Leur importance dans la formation des nodules de manganèse et dans la synthèse du pétrole constitue un des sujets d'actualité.

La transformation des matières organiques intéresse tout autant les chercheurs.

Citons, à titre d'exemples, les travaux de WAKSMAN et al. (1933) qui étudient la décomposition de la matière organique par les bactéries, en mer et dans les sédiments.

ANDERSON et ZOBELL (1936) s'intéressent à la distribution des bactéries dans les sédiments marins; ils les dénombrent et analysent les facteurs qui influencent leur distribution.

ZOBELL (1946-1964) consacre de nombreux travaux aux sédiments des eaux profondes et au rôle des bactéries dans la formation des dépôts de carbonate de calcium, de fer, etc.... Il observe que l'activité bactérienne peut contribuer par divers processus réducteurs, à la formation du pétrole ou de produits similaires.

SENEZ (1950) aborde les problèmes écologiques des bactéries des sédiments marins, il analyse plus particulièrement le cas des bactéries du cycle de l'azote, du soufre et du fer.

FERGUSON-WOOD (1967) traite des sédiments dans un chapitre de son ouvrage sur la microbiologie des océans et des estuaires; il met en évidence l'importance des micro-organismes dans les processus géologiques.

BIANCHI (1971) présente une thèse sur l'écologie des bactéries des sédiments marins et leur participation à la dégradation de la matière organique.

KRUMBEIN (1972), enfin, précise le rôle joué par les bactéries dans la genèse et la dégradation des roches.

Nous analysons certains de ces processus, de manière plus détaillée, dans notre thèse annexe.

2.5. LA BACTERIOLOGIE LITTORALE

Les études bactériologiques sur la zone littorale sont plus limitées quoique de nombreuses publications traitent de la faune et de la flore.

DELAMARE-DEBOUTEVILLE (1960), dans son intéressant ouvrage sur la "Biologie des eaux souterraines, littorales et continentales", se limite à faire un compte total des bactéries de surface. MEADOWS et ANDERSON (1968), ANDERSON et MEADOWS (1969) observent soigneusement la distribution, l'abondance et les types de micro-organismes fixés aux grains de sable littoraux. Ils remarquent que la flore bactérienne diminue légèrement avec la profondeur. Toutefois, leurs investigations, de même que celles de la plupart des autres chercheurs, ne portent que sur une profondeur de quelques centimètres.

Ainsi que nous le faisions remarquer dans l'introduction, les travaux sur la détermination systématique des bactéries littorales sont pratiquement nulles, principalement en ce qui concerne les germes de profondeur.

Cette détermination constitue le but principal de la présente dissertation avec, en préliminaire, deux chapitres consacrés à l'étude sommaire du biotope et de la biocénose annexe.

3. BIOTOP E ETUDE

3.1. LOCALISATION DE LA ZONE LITTORALE ETUDIEE

3.1.1. Généralités

Cette recherche a été effectuée dans la zone littorale de la côte belge. L'étude principale était axée sur la zone intertidale d'une plage peu fréquentée car difficilement accessible aux touristes. Nous y disposions d'un laboratoire permettant une analyse immédiate des échantillons.

Relativement préservé des contacts humains directs, ce milieu peut sembler naturel, pour autant qu'on puisse considérer comme naturelle une plage baignée par des eaux polluées. Le phénomène de pollution étant généralisé sur la plupart des côtes, on observe, en fait, un écosystème "actuel".

Le milieu interstitiel est peut-être plus abondamment pourvu en matières organiques ou toxiques qu'il ne l'était avant les pollutions marines massives. Il semble néanmoins que le sable des profondeurs ait préservé une flore microbienne caractéristique et parfaitement adaptée aux conditions environnantes.

Avant d'en envisager les qualités proprement biologiques, il est utile de prendre en considération l'environnement physico-chimique. A titre de comparaison, des prospections ont été faites en mer et dans le chenal de Nieuwpoort.

3.1.2. Représentation du lieu

La zone étudiée est une section de plage située à mi-chemin entre le chenal de Nieuwpoort et le camp militaire de Lombardsijde. La bande littorale, c'est-à-dire la distance parcourue par la mer entre la marée haute et la marée basse de vives eaux, présente à cet endroit une largeur moyenne de 440 m.

La figure 1 (page 23) en montre une coupe schématique. Nous insistons sur ce dernier terme car il est bien évident que la surface n'est jamais plane mais présente une ou deux bâches

littorales. La morphologie de la surface s'est d'ailleurs modifiée légèrement au cours des années consacrées à cette étude. Les flèches indiquent les 7 endroits où se sont faits habituellement les prélèvements. Ils sont numérotés de 1 à 7 en commençant par la zone supralittorale.

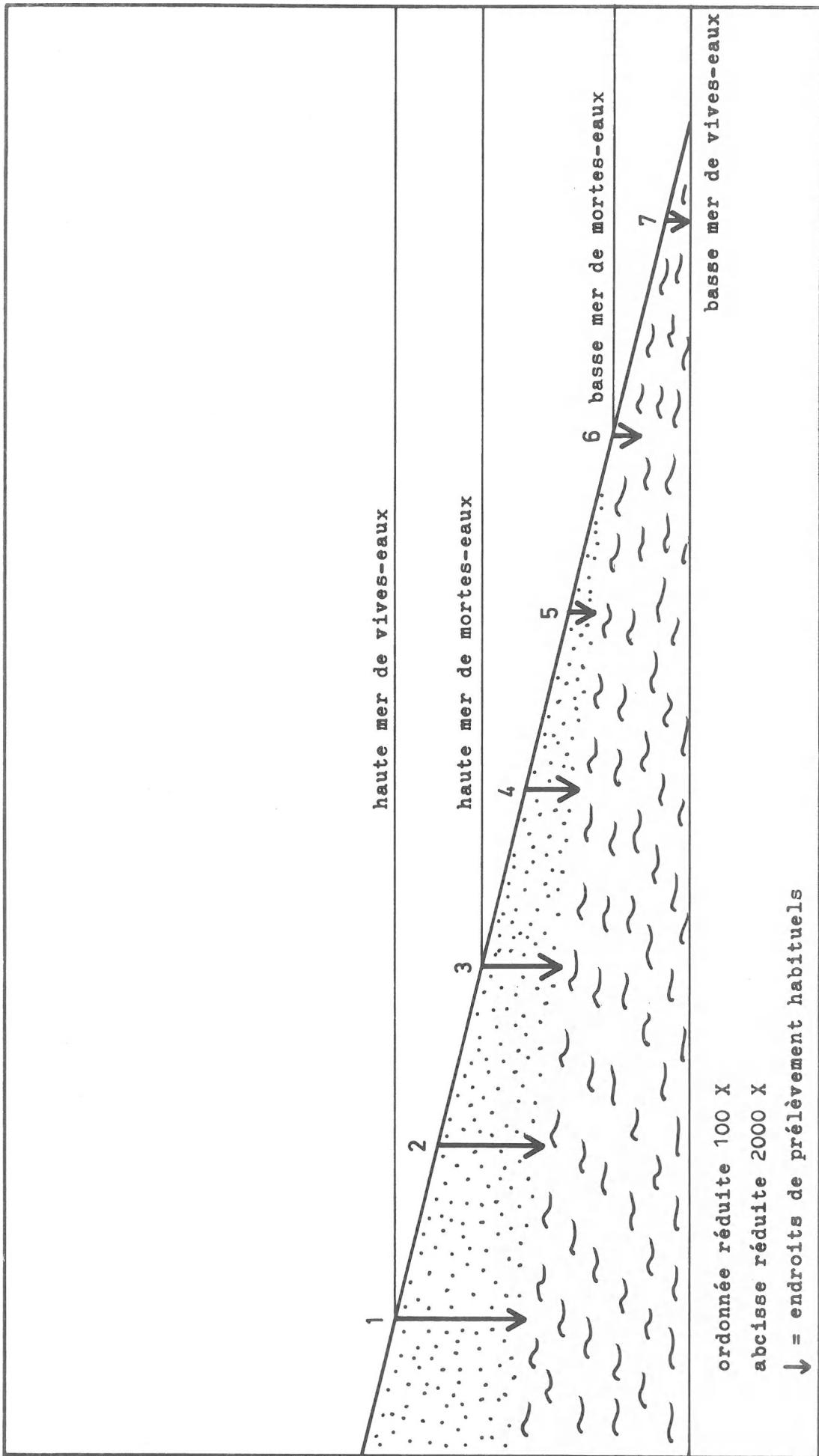


Fig. 1. - Coupe schématique de la plage

3.2. DIMENSIONS ET COMPOSITION DU SABLE

La zone étudiée est constituée d'un sable fin à prédominance siliceuse (83 %) dont les grains ont un diamètre moyen de 200 μm . Ceci correspond, suivant PENNAK (1951), à la catégorie des sables fins à très fins, dont les interstices sont occupés par un volume d'eau de 42 à 43,4 % du volume total de sable mouillé. Un gramme de sable contient environ 75.000 grains (DEPUYDT, 1972). Le sable siliceux est particulièrement résistant à l'attaque microbienne. Par contre, on peut remarquer que des grains non siliceux sont attaqués par les champignons et les actinomycètes; leur mycelium y creuse des canaux accessibles alors aux bactéries qui y effectueront la digestion du mycelium mort. La plage peut être localement recouverte de débris de coquillages mais ceux-ci n'accèdent aux profondeurs que lorsque leur taille est suffisamment réduite.

3.3. EAU INTERSTITIELLE

La nappe d'eau souterraine ne peut être considérée comme une eau phréatique puisqu'elle est située au-dessus du niveau de la mer.

Nous la considérons comme une eau capillaire en ce sens qu'elle s'élève avec la marée et varie avec le niveau de celle-ci plus qu'avec les pluies.

Ce décalage a pu être mesuré au départ d'un tuyau vertical enfoncé profondément dans la plage à hauteur du point de prélèvement n° 2 (Réf. Fig. 1, page 23). Le niveau d'eau, relevé d'heure en heure, accuse un retard d'environ 3 heures sur la marée. Le niveau atteint dépend du type de marée. On observe un balancement, d'une valeur supérieure à un mètre lors de hautes marées et réduite à quelques cm lors de faibles marées sous mer calme. Cependant, la hauteur de l'eau interstitielle garde toujours un certain retard par rapport au niveau de la mer.

A marée basse, le sable de surface sèche progressivement, compte tenu des conditions météorologiques et de l'éloignement de la mer.

Sous la surface, il conserve une certaine humidité mais il faut toutefois creuser jusqu'à une profondeur de 1 à 2 m dans la zone supralittorale avant d'atteindre la nappe aquifère.

La teneur en NaCl s'abaissant quelquefois jusqu'à 22 ‰ en zone supralittorale, il est possible que la nappe d'eau soit influencée, quoique dans une faible mesure, par un apport d'eau douce d'origine terrestre ou fluviatile.

Rappelons, en effet, que cet endroit est situé à proximité de l'estuaire de l'Yser. Nous en discuterons plus longuement dans le chapitre consacré à la salinité.

3.4. MODES DE PRELEVEMENTS

Les prélevements sont effectués au départ d'entonnoirs creusés, au moyen d'une bêche, dans le sable jusqu'au niveau de la couche d'eau profonde (Réf. Fig. 1, Page 23).

Les paramètres physico-chimiques sont mesurés, soit sur le terrain, soit en laboratoire, au départ de l'eau interstitielle qui s'accumule au fond des entonnoirs.

Le sable destiné aux analyses bactériologiques est prélevé stérilement, au niveau choisi, de la manière suivante : une motte de sable est détachée au moyen d'une pelle et déposée rapidement sur le sol où elle se brise. Au centre de la fissure, on prélève instantanément quelques grammes de sable au moyen d'un écouvillon stérile contenu dans un tube modèle médical. Le sable est placé dans le tube qui est alors refermé et transporté en laboratoire. Si l'échantillon a été récolté au niveau de la nappe d'eau, l'eau surnageante du tube suffit pour les analyses bactériologiques de l'eau ; s'il a été prélevé dans un sable sec ou à peine humide, il suffit d'ajouter de l'eau stérile dans le tube qui sera ensuite secoué énergiquement durant 5 minutes afin d'obtenir un "lavage" du sable. Le produit de lavage sera analysé et interprété en fonction de la quantité de sable recueillie et de l'eau ajoutée.

Le sable destiné à l'examen de la faune et de la flore est prélevé largement et placé dans un récipient d'un litre, à large goulot, qui sera gardé à basse température (4°C.) jusqu'au moment de l'examen.

3.5. PARAMETRES MESURES

3.5.1. - Mesure du pH	
3.5.1.1. - Généralités	32
3.5.1.2. - Résultats	33
3.5.1.3. - Discussion	36
3.5.2. - Mesure de l'oxygène dissous	
3.5.2.1. - Généralités	38
3.5.2.2. - Techniques	40
3.5.2.3. - Résultats	41
3.5.2.4. - Discussion	44
3.5.3. - Mesure de la température	
3.5.3.1. - Généralités	47
3.5.3.2. - Résultats	49
3.5.4. - Mesure de la salinité	
3.5.4.1. - Généralités	51
3.5.4.2. - Techniques	53
3.5.4.3. - Résultats	53
3.5.4.4. - Discussion	56
3.5.5. - Mesure des Phosphates	
3.5.5.1. - Généralités	58
3.5.5.2. - Techniques	59
3.5.5.3. - Résultats	60
3.5.5.4. - Discussion	60
3.5.6. - Mesure des Nitrates et des Nitrites	
3.5.6.1. - Généralités	62
3.5.6.2. - Techniques	64
3.5.6.3. - Résultats	64
3.5.6.4. - Discussion	65
3.5.7. - Mesure des Sulfates	
3.5.8. - Mesure de la matière organique. Rapport carbone/Azote.	
3.5.8.1. - Généralités	67
3.5.8.2. - Techniques	70
3.5.8.3. - Résultats	71
3.5.8.4. - Discussion	72

3.5.1. MESURE DU pH

3.5.1.1. Généralités

Ainsi que le remarque DELAMARE-DEBOUTTEVILLE (1960), le pH n'est jamais un facteur limitant en hydrobiologie; il n'est que la traduction de l'action conjuguée de plusieurs autres facteurs. Parmi ceux-ci, figure l'activité bactérienne.

Nous avons néanmoins mesuré le pH de l'eau interstitielle s'accumulant au fond des trous de prélèvement, afin de vérifier les corrélations avec d'autres paramètres et notamment avec la concentration en oxygène dissous.

Durant une année, nous nous sommes servis d'un petit pH-mètre portatif de type SEIBOLD. Les résultats de ces mesures sont consignés dans le tableau n° 1 (page 33).

Désirant obtenir des résultats plus précis, nous avons, en juillet 1975, creusé des séries de 3 trous proches l'un de l'autre et nous y avons mesuré simultanément le pH de l'eau interstitielle. Le pH-mètre SEIBOLD nous ayant paru instable, nous avons utilisé dès lors un appareil BECKMAN, plus conventionnel et plus robuste. Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux 2 et 3 (pages 34 et 35).

3.5.1.2. Résultats

3.5.1.2.1. Tableau n° 1 : - Valeurs du pH de l'eau interstitielle mesurées à l'aide de l'appareil SEIBOLD; aux endroits de prélèvement habituels (Ref. Fig.1, page 23) au cours d'une année.

Données numériques

Périodes	Points de Prélèvement						
	1	2	3	4	5	6	7
JUILLET 73	8	7,6	6,8	6,8	6,3	7,8	-
AOUT 73	8,2	6,7	8,3	8,3	8	6,9	7
NOV. 73	8,1	8	7,4	7,2	7	7,1	7
MARS 74	7,2	6,9	6,9	6,8	6,4	7	7,1
AVRIL 74	7,6	6,2	7,8	7,8	7,8	7,9	7,9
JUIN 74	7,8	7,5	7,4	7,2	6,9	7	6,6
JUILLET 74	8	7,6	6,8	6,8	6,3	7,8	-
MOYENNES	7,8	7,2	7,3	7,3	7,0	7,4	7,1

Analyse de la variance

Sources de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Totale	46	15,276		
Factorielle	6	3,137	0,523	
Résiduelle	40	12,139	0,303	1,73

$F_{0,95} = 2,34$. H_0 est accepté.

3.5.1.2.2. Tableau n° 2. - Valeurs du pH de l'eau interstitielle mesurées toutes les 75 minutes, en juillet 1975, par groupes de 3 mesures simultanées, au niveau du point de prélèvement N° 3 (Réf. Fig. 1, page 23).

Données numériques

10h30 (1)	12h45 (2)	14h00	15h15	16h30	17h45 (3)
7,90	7,40	7,80	7,70	7,68	7,51
7,67	7,68	7,73	7,78	7,70	7,50
7,60	7,80	7,70	7,72	7,70	7,52
\bar{x} : 7,72	7,62	7,74	7,73	7,69	7,51

(1) : Avant d'être recouvert par la marée montante.

(2) : Venant d'être découvert par la marée descendante.

(3) : A marée basse.

Analyse de la variance

Sources de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Totale	17	0,263		
Factorielle	5	0,121	0,0242	
Résiduelle	12	0,142	0,0119	2,03

$F_{0,95} = 4,39$. H_0 est accepté.

3.5.1.2.3. Tableau n° 3. - Valeurs du pH de l'eau interstitielle mesurées en juillet 1975, par groupes de 3 mesures simultanées, à quelques mètres du bord de mer, en suivant la marée descendante (Points de prélèvement : Réf. Fig. 1, page 23).

Données numériques

A hauteur du point de prélèvement n° :					
2	3	4	5	6	
7,40	7,70	7,22	7,03	7,00	
7,68	7,61	7,27	7,10	7,22	
7,80	7,61	7,31	7,14	7,10	
\bar{x} : 7,63	7,64	7,27	7,09	7,11	

Analyse de la variance

Sources de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Totale	14	1,007		
Factorielle	4	0,883	0,2207	
Résiduelle	10	0,124	0,0124	17,8

$$F_{0,95} = 3,48 \quad F_{0,9995} = 13,4 \quad H_0 \text{ est rejeté.}$$

3.5.1.3. Discussion

D'une manière générale, le pH de l'eau interstitielle est un peu moins basique que celui de l'eau de mer pour laquelle nous avons trouvé une valeur moyenne > 8 : chiffre confirmé par les données de la littérature. La plus faible valeur du pH de l'eau interstitielle est explicable, ne fut-ce que par l'activité métabolique des organismes qui la peuplent. C'est également le cas pour les sédiments marins.

Le tableau 1 ne permet pas de déceler une différence de pH entre les endroits de prélèvement. Ceci est confirmé par l'analyse de la variance. Les fluctuations irrégulières du pH peuvent être dues à un manque de précision de l'appareil de mesure.

L'examen du tableau 2 nous porterait à croire que le milieu s'acidifie avec le temps puisque, après 5 heures d'émergence, la moyenne du pH est passée de 7,72 à 7,51.

Cependant, l'analyse de la variance ne nous permet pas de conclure qu'il existe une différence significative au même endroit, au cours d'un demi cycle de marée.

Le tableau 3, par contre, indique une différence significative entre les lieux : différence confirmée par l'analyse de la variance.

Il n'est point besoin d'analyse supplémentaire pour nous rendre compte que l'acidité de l'eau interstitielle est liée directement à la longueur du temps d'immersion.

En d'autres termes, l'eau interstitielle de la zone infralittorale est moins basique que celle de la zone supralittorale. Ce phénomène est dû partiellement à la plus grande anaérobiose des zones à plus longue immersion, avec formation subséquente de grandes quantités d' H_2S dont nous avons pu vérifier la présence par la couleur noire et l'odeur du sable.

Nous verrons plus loin que ces observations sont confirmées par l'abaissement simultané de la teneur en oxygène dissous.

3.5.2. MESURE DE L'OXIGENE DISSOUS

3.5.2.1. Généralités

De nombreux travaux font état de la teneur en oxygène dissous dans les eaux douces, les estuaires et les océans.

Les sédiments marins, particulièrement ceux de la zone de balancements des marées, ont été moins étudiés.

Les sédiments sous-marins sont considérés comme ne contenant pratiquement pas d'oxygène dès qu'on s'enfonce sous la surface. En ce qui concerne le littoral marin, GORDON (1960) constate, sur les plages californiennes, une baisse de concentration en O_2 , en fonction de la diminution de la taille des grains de sable. La zone d'aérobiose peut s'étendre à 20 cm mais, à cette profondeur, l'oxygène est rapidement consommé. Les organismes vivant dans les plages à sables fin, à une profondeur de plus de 5 à 10 cm, doivent être capables de survivre en anaérobiose durant des périodes plus ou moins égales à celles de l'immersion par la marée.

AMOUREUX (1963) a effectué une étude systématique des eaux interstitielles de l'Aber de Roscoff, à différents moments de l'émergence et à une profondeur de 10 à 15 cm.

Les chiffres qu'il obtient sont relativement faibles et varient de 0 à 2 mg/l d' O_2 dissous. Il ne mentionne pas la température mais indique qu'il y a baisse de concentration d' O_2 en été.

MAKEMSON (1973) a étudié les eaux interstitielles de 2 plages libanaises. Pour l'une d'elles, les résultats varient de 1,67 à 5,54 mg/l d' O_2 dissous avec des pourcentages de saturation respectifs de 22 et 69 %. La variabilité n'est pas en

relation avec les saisons mais plutôt avec les conditions météorologiques. Les concentrations les plus élevées suivent les périodes d'orages et de grand vent.

Cependant, les comparaisons sont difficiles car il s'agit, ici, de plages sans marées avec un apport conséquent en eau douce et un sable de granulométrie moyenne.

KANWISHER (1962) remarque que les gaz diffusent d'un milieu à l'autre en fonction de leur gradient respectif. L' O_2 apporté par l'eau ou formé par la pellicule superficielle diffuse vers l'intérieur du sédiment où il est consommé. Le CO_2 et l' H_2S formés à l'intérieur du sédiment, diffusent vers le haut.

CALLAME (1967) note que ces échanges ont également lieu à marée basse entre le sédiment intercotidal et l'atmosphère et que les sédiments les plus fins, bien qu'étant les moins perméables à la circulation de l'eau, sont aussi ceux qui apportent le moins d'obstacles à la diffusion moléculaire.

Cet auteur relate ensuite une expérience très intéressante vérifiant la diffusion de l'oxygène dans des sables réducteurs recoltés sur la plage. Il prouve que cette diffusion est plus rapide dans un sable non tassé et qu'elle est nulle dans le sable isolé du contact de l'air. Il prouve également que ce sont bien les actions biologiques anaérobies qui interviennent dans la formation du sulfure de fer noir à condition qu'une certaine quantité de matière organique se trouve présente comme source d'énergie. Si, à partir de la surface, un apport d'oxygène est maintenu, le milieu se trouvera progressivement "réoxydé"; il pourrait même l'être par un processus uniquement physico-chimique.

L'auteur analyse les valeurs de ces apports d'oxygène, apports relativement faibles mais renouvelés beaucoup plus rapidement dans les eaux littorales à marées, par suite du déplacement de l'eau interstitielle.

3.5.2.2. Techniques

Nos premières mesures de concentration ont été faites à l'aide d'une sonde à oxygène portative YSI modèles 57.

Le sable est creusé en forme d'entonnoir à l'endroit et à la profondeur prévue (Réf. Fig. 1, page 23); la sonde est plongée dans l'eau qui s'accumule immédiatement au fond de l'entonnoir. La valeur de la mesure est lue en fonction de la température et de la salinité.

Désirant obtenir des résultats plus précis, nous avons effectué, en juillet 1975, une nouvelle série de mesures.

Des flacons de 250 ml, à bouchon rodé, étaient enfouis au fond de l'entonnoir de prélèvement et lentement remplis d'eau; ils étaient ensuite bouchés sans que n'y soit enfermée la moindre bulle d'air. Les prélèvements étaient effectuées par groupes de 3.

Dans les minutes suivantes, nous pratiquions une titration en laboratoire selon la méthode de WINKLER modifiée (STRICKLAND et PARSONS, 1972).

Dans une troisième tentative d'interprétation, nous avons choisi une ligne fictive parallèle à la côte, au niveau de la zone, médiolittorale, à hauteur du point de prélèvement n° 3 (Réf. Fig. 1, page 23).

Dès que la marée descendante avait dépassé ce niveau, nous y creusions, d'heure en heure, des groupes de 3 trous, afin d'y relever les concentrations en oxygène en fonction du temps.

3.5.2.3. Résultats

3.5.2.3.1. - Tableau n° 4. - Concentration de l'eau interstitielle en oxygène dissous, exprimée en mg/l, relevée en juillet 1974, au moyen de la sonde YSI.

Données numériques

Dates	Points de prélèvement (Réf. Fig. 1, page 23)					
	1	2	3	4	5	6
1er jour	4,4	2,4	2,6	1,4	1,6	1,2
2e jour	5,5	3,15	3,15	2,5	1,82	1,5
3e jour	5,1	2,8	2,8	1,75	3,8	1,0
Moyenne	5,0	2,78	2,85	1,88	2,40	1,23

Analyse de la variance

Sources de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Totale	17	29,421		
Factorielle	5	24,669	4,934	12,46
Résiduelle	12	4,751	0,396	

$$F_{0,95} = 3,11 \cdot H_0 \text{ est rejeté.}$$

3.5.2.3.2. Tableau n° 5. - Concentration de l'eau intersituelle en oxygène dissous, exprimée en mg/l, relevée en juillet 1975, par groupes de 3 trous voisins.

Titration selon la méthode de Winkler.

Entre parenthèses, le pourcentage de saturation en fonction de la température et de la salinité, selon GREEN et CARRITT (1967).

Données numériques

Endroits	Points de prélèvement (Réf. Fig.1 p.23)					
	1	2	3	4	5	6
1er trou	7,605 (97,3%)	5,826 (77,4%)	3,410 (45,8%)	0,028 (0,36%)	0	0
2e trou	-	5,826 (77,4%)	2,274 (30,2%)	0,028 (0,36%)	0	0
3e trou	-	5,826 (77,4%)	1,705 (22,6%)	0,028 (0,36%)	0	0
Moyenne	7,605	5,826	5,115	0,028	0	0

2.663

Remarques

- (1).- Point n'est besoin d'analyse statistique pour se rendre compte que la différence de concentration en oxygène est faible entre trous voisins mais grande entre les points de prélèvement habituels.
- (2).- Les valeurs nulles aux points 5 et 6 correspondent à des zones de sable noir à forte odeur d'hydrogène sulfuré.

3.5.2.3.3. Tableau n° 6. - Concentration de l'eau interstitielle en oxygène dissous, exprimée en mg/l, relevée toutes les heures au niveau du point de prélèvement n° 3 (Réf. Fig.1, page 23), au cours d'un demi cycle de marée. Les données numériques reprises ci-dessous, ont été obtenues au moyen de la sonde YSI.

Temps Périodes	T+1	T+2	T+3	T+4	T+5	T+6
Juillet 1974	3,8	-	3,9	-	4,8	-
Mai 1975	4,25	3,6	3,65	4,3	3,4	3,8
Juin 1975	3,3	4,3	3,3	2,25	2,7	2,4

3.5.2.3.4. Tableau n° 7. - Concentration de l'eau interstitielle en oxygène dissous, exprimée en mg/l, relevée toutes les 75 minutes au niveau du point de prélèvement n° 3 (Réf. fig.1, page 23), au cours d'un demi cycle de marée. Les données numériques reprises ci-dessous, ont été obtenues par titration.

Entre parenthèses, figurent les pourcentages de saturation en fonction de la température et de la salinité, selon GREEN et CARRITT (1967).

Données numériques

Temps Endroits	T+1	T+2	T+3	T+4	T+5	T+6
1er trou	3,979 (52,8%)	5,826 (77,4%)	6,252 (83,0%)	2,131 (27,8%)	5,684 (73,3%)	2,700 (34,5%)
2e trou	4,405 (56,8%)	5,826 (77,4%)	4,831 (62,6%)	2,558 (33,7%)	4,973 (64,1%)	4,120 (52,1%)
3e trou	4,974 (64,1%)	5,826 (77,4%)	4,263 (54,9%)	3,552 (46,3%)	4,973 (63,4%)	3,126 (39,5%)
Moyenne	4,453	5,826	5,115	2,747	5,210	3,315

Analyse de la variance

Sources de variation	Degrés de liberté	Sommes des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Totale	17	26,363		
Factorielle	5	21,303	4,260	
Résiduelle	12	5,099	0,422	10,1

$$F_{0,95} = 3,11 \cdot H_0 \text{ est rejeté.}$$

3.5.2.4. Discussion

Le tableau 4, confirmé par l'analyse de la variance, indique une variabilité de la concentration en oxygène plus grande entre les endroits de prélèvement habituels (Réf. Fig. 1, page 23) qu'entre les trous creusés au même endroit à 1 jour d'intervalle. Il est évident que la concentration en oxygène diminue de la zone supralittorale vers la zone infralittorale.

La diminution de l'oxygène est encore plus évidente dans le tableau n° 5 que ne requiert pas d'analyse statistique.

Nous nous souviendrons que cet abaissement du taux d'oxygène est lié à un abaissement de pH et que les endroits où le taux d'oxygène est nul, correspondent à des zones d'intense production d' H_2S .

Ces endroits sont soumis, en même temps, à des périodes d'immersion plus prolongées, ce qui entraîne automatiquement un plus grand apport de matières organiques qui seront progressivement enfouies dans le sable.

Il est intéressant de noter au passage le fait que la mer voit sa concentration en oxygène et sa salinité varier fortement à cet endroit situé au Nord-Est du chenal de Nieuwpoort.

A marée basse, avec vent du Sud-Ouest, nous avons mesuré, en eau de mer, 2,70 mg d' O_2 /l pour une teneur en NaCl de 30g/l, ce

qui équivaut à un pourcentage de saturation de 72 %.

Dans les mêmes conditions de marée, avec vent du Nord-Est, nous avons relevé 3,83 mg d' O_2 /l pour une teneur de NaCl de 31,9 g/l, ce qui équivaut à un pourcentage de saturation de 103 %.

A marée haute, la mer n'étant plus influencée par l'eau du chenal, nous avons mesuré 4,12 mg d' O_2 /l pour une teneur en NaCl de 33 g/l, ce qui équivaut à un pourcentage de saturation de 112 %.

Ces chiffres indiquent nettement l'influence des eaux du chenal sur la plage étudiée.

Nous avons déjà mis en évidence, suite à un rejet de rhodamine en mer, cité dans le paragraphe 2.3 (DARTEVELLE et al, 1974), l'influence prépondérante du vent sur le déplacement des eaux de surface. Ceci explique partiellement les variations de salinité de l'eau interstitielle dont nous parlerons dans le chapitre suivant et les irrégularités dans la concentration en oxygène dissous.

Le tableau 6 nous indique l'évolution de la concentration de l'eau interstitielle en oxygène dissous, relevée à hauteur du point de prélèvement n° 3 (Réf. Fig. 1, page 23), au cours d'un demi cycle de marée, au moyen de la sonde YSI.

Le tableau 7, enfin, nous renseigne également sur les mêmes variations au cours d'un demi cycle de marée mais, dans ce cas, les mesures ont été effectuées par groupes de 3 et les valeurs ont été obtenues par titration. Nous avons choisi la zone médiolittorale pour des raisons pratiques. Il est en effet impossible de creuser, en un court laps de temps, en zone supralittorale, 3 trous d'une profondeur de 1 à 2 m.

Cependant, nous avons déjà pu remarquer que la concentration en oxygène est plus élevée dans la zone supralittorale que dans la zone médiolittorale. Quoiqu'il en soit, l'examen du tableau 7 indique que l'eau interstitielle est relativement aérée à ce niveau. Elle semble même voir sa concentration en O_2 augmenter dans les premiers temps qui suivent l'émersion.

L'analyse de la variance indique une différence de concentration au cours du temps mais cette variation semble aléatoire et il est impossible de la mettre en corrélation avec la salinité, la température ou le pH.

La seule constatation qui nous paraît évidente, est l'aérobiose de cette zone (sauf conditions locales particulières). Ceci est confirmé par la présence d'une flore bactérienne aérobie rencontrée jusqu'aux plus grandes profondeurs atteintes.

3.5.3. MESURE DE LA TEMPERATURE

3.5.3.1. Généralités

La température de la mer du Nord peut descendre jusqu'à une valeur égale ou inférieure à 3° C en hiver. Durant le mois d'août 1971, nous avons eu l'occasion de mesurer une température extrême de 21° C au large des côtes de Zeebrugge.

Ceci nous donne une variation possible d'une vingtaine de degrés.

ZOBELL (1946) déclare que, dans un environnement stable comme la mer où l'absence de matières organiques ou de substances solides limite la population bactérienne, il est douteux que la température ait une influence quantitative ; par contre, son influence qualitative serait nettement marquée.

Pour MORITA et BUCK (1972) ainsi que pour PAUL et MORITA (1971) une température trop basse affecte la majorité des bactéries en ce sens qu'elle empêche l'assimilation des substrats par suite d'une altération de la membrane. Ils ont démontré que l'assimilation de beaucoup d'acides aminés cesse à 5° C encore que d'autres substrats, le glucose par exemple, puissent toujours être assimilés.

Il ne faut cependant pas perdre de vue que 90 % du volume des eaux qui recouvrent 72 % de la surface terrestre accusent une température moyenne inférieure à 5° C (ZOBELL, 1962). La majeure partie de la biosphère marine étant froide, les bactéries marines psychrophiles doivent retenir l'attention (MORITA, 1972).

Dans le cas qui nous occupe, ces basses températures sont rarement atteintes.

Le rôle joué par la température dans le phénomène de la croissance des bactéries marines a été mis en évidence par les importants travaux de SIEBURTH (1967). Il juge qu'avant d'étudier le rôle des bactéries dans le maintien de la productivité des eaux marines il est nécessaire de savoir quels sont les groupes taxonomiques dominants, et de comprendre quels sont les facteurs

d'environnement qui les contrôlent.

Son but était de déterminer l'existence éventuelle d'une sélection de type "thermique" et dans l'affirmative, sa correspondance avec une sélection "générique".

En fait la sélection thermique se produit dans tous les genres bactériens et est indépendante de la sélection taxonomique. En d'autres termes, on rencontre dans chaque genre, des espèces qui résisteront plus facilement que d'autres aux variations de température.

La courbe de température de la croissance maximum, en fonction des mois de l'année, forme une sigmoïde similaire à la courbe de température de l'eau des prélèvements, mais avec un retard de 2 mois sur cette dernière. Ceci indique une lente sélection de type "thermique".

Aucune étude de cette envergure n'a été entreprise sur les bactéries interstitielles.

La température en surface des plages varie dans une plus large mesure en fonction notamment de l'insolation, mais aussi de la saison, de la T° de la mer ou de l'air, de la direction et de la force du vent etc...

SWEDMARK (1964) fait remarquer que les variations sont beaucoup moins marquées à l'intérieur du sable.

Il pense que différentes conditions et notamment les variations de la température dans le sable, entraînent certaines migrations verticales de la flore et de la faune.

Les migrations de bactéries, dans le sens où on l'entend habituellement, ne sont pas concevables. Toutefois, comme les germes sont présents à tous les niveaux et ont un taux de reproduction élevé, la température peut favoriser leur multiplication à une profondeur donnée et la freiner ailleurs, donnant ainsi l'apparence d'une migration.

STANIER et al. (1966) classent les micro-organismes, suivant la température qui leur est la plus favorable, en psychrophiles (optimum < 20° C) mésophiles (optimum 20-45° C) et thermophiles (optimum > 45° C).

SIEBURTH (1967) situe plus précisément la température optimum des psychrophiles obligatoires à 9° - 10° C. Il nomme psychrophiles facultatifs ceux qui croissent entre 9° et 27° C et psychro-tolérants ceux qui présentent un optimum aux environs de 20° C. Les mésophiles croissent à partir de 20° C et ont un optimum à 30° C.

Le moment nous paraît opportun de préciser le terme de "mésophile" que nous utilisons dans le titre de ce travail.

Nous l'avons choisi dans le sens de "qui se multiplie à la température de 20° C", puisque, pour des raisons évidentes, nous ne pouvions soumettre nos cultures à toute une gamme de températures différentes.

Dans ces conditions, il s'agit donc de mésophiles pour STANIER et al. (1966) et de psychro-tolérants pour SIEBURTH (1967).

Il va de soi que, dans le cas des souches difficiles à cultiver, nous avons tenté des incubations à températures plus basses ; pour détecter les bactéries thermophiles nous avons fait des cultures à des températures plus élevées. Nous en discuterons dans le chapitre consacré aux techniques bactériologiques (Réf., 5.3.).

3.5.3.2. Résultats

Nous avons effectué des relevés mensuels de la température, durant une année, au niveau de l'eau de mer littorale et à celui de l'eau interstitielle.

Nous avons pu constater que, de mars à août, la température est plus basse en zone supralittorale et s'élève graduellement lorsqu'on se rapproche de la mer ; l'inverse étant vrai de septembre à février.

L'eau interstitielle se réchauffe et se refroidit donc avec un certain retard sur l'eau de mer. Quoiqu'il en soit, la différence entre la température de cette dernière et celle de l'eau interstitielle est au maximum de 1,7° C.

Ces variations comparatives sont illustrées par la figure 2.

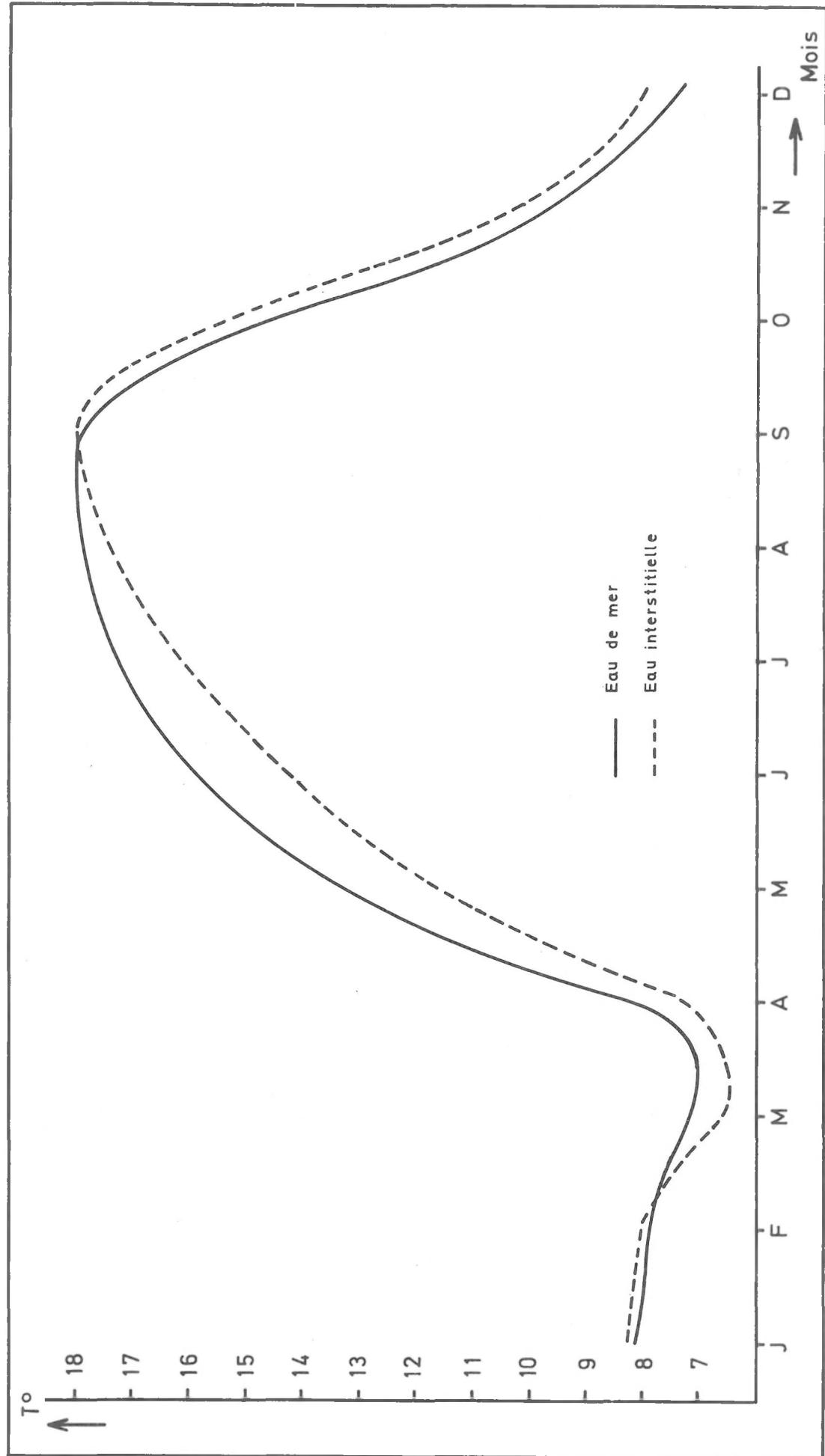


Fig. 2. - Comparaison entre la T° de l'eau de mer et celle de l'eau interstitielle de la zone supralittorale, durant une année.

3.5.4. MESURE DE LA SALINITE

3.5.4.1. Généralités

Beaucoup d'ouvrages traitent des besoins en NaCl des bactéries marines. Citons, à titre d'exemples, ceux de MAC LEOD et al. (1958) et de BRISOU et VARGUES (1965).

Mais, comme le remarque PRATT (1972), nous ne connaissons encore que très peu de choses sur ce sujet. S'il est vrai que Na^+ est nécessaire au maintien de la pression osmotique, il ne peut être complètement remplacé par d'autres cations car il a, en outre, une fonction physiologique.

La salinité minimum requise s'élève si on augmente la température d'incubation. Ce fait est probablement dû à des changements de propriétés de la membrane (ISHIDA et al, 1972). Toutefois, ces auteurs n'ont pas toujours observé ce phénomène d'interaction "Température-Salinité" dans leurs cultures de bactéries marines.

Les besoins en NaCl des bactéries interstitielles sont encore plus mal connus. Quoiqu'il en soit, elles paraissent peu affectées par les variations de la salinité ; il en est d'ailleurs de même pour les autres formes vivantes établies dans ce milieu et au sujet desquelles DELAMARE DEBOUTTEVILLE (1960), dans son ouvrage sur la "Biologie des eaux souterraines, littorales et continentales" écrit : "Il ne faut pas s'étonner dans ces conditions, de ce que la faune interstitielle soit également largement euryhaline.".

Ce qui nous paraît beaucoup plus important pour la survie de ces organismes est la qualité globale de l'eau interstitielle plutôt que sa teneur en NaCl. Nous avons eu la surprise de constater que beaucoup de souches halophiles croissent difficilement sur milieu préparé à l'eau de mer tandis qu'un milieu préparé à l'eau interstitielle leur est favorable ; la teneur en NaCl de ces deux types d'eau pouvant, par ailleurs, être semblable.

La cause de cette préférence ne découle vraisemblablement pas de la teneur en nitrates ou phosphates, qui diffère peu de celle de l'eau de mer.

Un élément plus abondant dans les sables, serait la silice.

FANNING et PILSON (1971) ont montré que la concentration en silice des sédiments marins est de 100 à 800 μM plus élevée que celle de l'eau de mer qui les recouvre ; or DEVEZE et al (1966) ont bien mis en évidence, dans les sédiments marins, des bactéries solubilisant certains sels minéraux insolubles, tels les silicates.

De nombreux autres facteurs qui ne paraissent être ni la concentration en oxygène, ni le pH, ni la température (éléments dont nous avons discuté précédemment), pourraient intervenir. Nous songeons, par exemple, aux oligo-éléments.

La matière organique soluble pourrait jouer un rôle, de même que la teneur en sels métalliques.

Les matières humiques ont tendance à former des complexes stables avec les ions métalliques. JACKSON (1975) signale que la matière humique des systèmes aquatiques, quoique difficilement reminéralisée et recyclée, peut être bénéfique en ce sens qu'elle rend certains cations disponibles pour les algues. Dès lors, la question se pose de savoir si les bactéries ne pourraient également bénéficier de cette possibilité.

Nous avons alors soumis à l'activation neutronique un échantillon d'eau de mer et un échantillon d'eau interstitielle afin d'obtenir une analyse spectrographique de leur teneur en métaux lourds.

Cette eau a été filtrée sur membrane millipore 0,45 μm et ne représente pas l'humus proprement dit.

D'autres analyses doivent encore être faites sur la matière organique particulière que nous avons recueillie en vue d'en connaître le rapport carbone-azote.

3.5.4.2. Techniques

La salinité a été exprimée au départ de la chlorinité ; celle-ci étant déterminée par titration (nombre de grammes d'halogènes précipités par le nitrate d'argent).

La technique d'analyse des métaux a été détaillée dans notre thèse annexe : "Rôle des bactéries dans le transfert des métaux lourds. Cas particulier du zinc".

3.5.4.3. Résultats

Tableau n° 8. - Salinités relevées au niveau de l'eau interstitielle, à marée basse, aux 7 points de prélèvement habituels en commençant par la zone supralittorale. Concentrations en g de NaCl par litre d'eau.

Données numériques

Périodes	Points de prélèvement (Réf. Fig. 1, page 23)						
	1	2	3	4	5	6	7
mars 73	31,174	-	32,316	-	-	-	-
avril 73	34,564	34,200	-	32,996	33,179	-	-
juil. 73	24,660	32,461	-	-	-	-	-
nov. 73	34,111	32,117	28,834	33,005	32,824	34,093	-
dec. 73	34,375	33,132	32,588	33,096	32,824	32,826	33,549
janv. 74	25,350	33,517	32,271	33,023	33,240	33,497	33,397
fév. 74	33,220	33,992	33,042	33,517	32,924	33,814	33,695
mars 74	31,045	32,429	32,232	30,749	32,034	32,983	32,627
avril 74	32,708	33,966	31,913	32,930	32,930	33,115	32,930
juin 74	33,283	36,981	33,468	34,097	32,174	33,006	33,542
mai 75	22,500	30,100	33,000	30,500	31,200	30,000	28,800
juil. 75	-	32,567	32,717	29,967	29,600	28,166	-
Moyenne	30,685	33,223	32,238	32,388	32,292	32,388	32,648

Analyse de la variance

Sources de Variation	Degrés de liberté	Sommes des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Totale	67	2157,61		
Factorielle	6	108,141	18,023	
Résiduelle	60	2049,02	34,150	1,89

$F_{0,95} = 2,35$. H_0 est accepté.

M I L I E U X	E L E M E N T S						Ce
	Cr	Co	Fe	Zn	Rb	Sr	
Eau de mer littorale Présen- ce	0 , 00029 <u>±0 , 00003</u>	Non dé- tectable	0 , 0171 <u>±0 , 0008</u>	0 , 122 <u>±0 , 006</u>	5 , 762 <u>±0 , 499</u>	0 , 00030 <u>±0 , 00002</u>	0 , 00035 <u>±0 , 00006</u>
Eau interstitielle Présen- ce	0 , 00024 <u>±0 , 00002</u>	5 , 382 <u>±0 , 103</u>	0 , 0084 <u>±0 , 0005</u>	0 , 179 <u>±0 , 009</u>	8 , 375 <u>±0 , 724</u>	0 , 00020 <u>±0 , 00002</u>	0 , 01308 <u>±0 , 00092</u>

Tableau n° 9. - Dosages métalliques comparés du Cr, Co, Fe, Zn, Rb, Sr, Cs et Ce de l'eau de mer littorale et de l'eau interstitielle, par activation neutronique suivie de spectrométrie gamma.

Les teneurs sont exprimées en ppm.

3.5.4.4. Discussion

L'analyse de la variance du tableau 8 ne permet pas de déceler une plus grande différence entre les points de prélèvement qu'entre les périodes de l'année. Il est vrai qu'en un même point, la teneur en NaCl de l'eau interstitielle s'est révélée extrêmement variable et imprévisible. Par exemple, nous avons eu l'occasion d'observer, en zone supralittorale, une teneur de 28,5 g/l par temps sec et chaud et une teneur de 33 g/l par temps de fortes pluies : soit l'inverse de ce à quoi l'on pourrait s'attendre logiquement.

Le minimum observé à cet endroit fut de 22,5 g/l.

De nombreuses observations seraient nécessaires avant l'établissement d'un modèle permettant de comprendre les causes de ces variations. Dans le paragraphe consacré à l'oxygène dissous, nous avons déjà signalé l'influence de l'eau douce amenée par le chenal de Nieuwpoort.

Nous verrons que la majorité des bactéries rencontrées dans ce milieu sont de préférence halophiles. L'espèce la mieux représentée supporte des concentrations en NaCl de 70 et même, de 100 g/l, quoique un abaissement à 20 g/l lui convienne encore parfaitement.

L'analyse comparée des métaux met en relief un des caractères particuliers de l'eau interstitielle.

En effet, si les éléments observés s'y trouvent en quantités relativement semblables à celles rencontrées dans l'eau de mer littorale, nous constatons (tableau 9) que le fer fait exception. Mis à part le strontium, il est de 50 à 10.000 fois plus abondant que les autres métaux analysés.

Il est représenté à raison de $5,7 \cdot 10^{-6}$ g par g d'eau interstitielle. Par contre, il n'a pas pu être décelé en mer du fait de sa trop faible concentration.

Ceci rejoint les constatations de MAC LEOD et ONOFREY (1953) qui supposent que la disponibilité en fer serait un des facteurs qui

restreint le plus la taille des populations bactériennes en mer.

Nous pouvons donc valablement admettre que ce métal est un élément indispensable aux germes caractéristiques des sables étudiés. Nous avons entrepris, dès à présent, des recherches complémentaires permettant de vérifier cette assertion qui n'est basée, ici, que sur l'analyse d'un seul échantillon (sur lequel 2 mesures ont été effectuées).

Cette observation est partiellement confirmée encore par analyse de la teneur en métaux de 2 souches bactériennes, dont nous avons fait état dans notre thèse annexe. Les résultats obtenus indiquent pour ces 2 souches, une teneur en fer 100 à 1000 fois plus élevée que celle des autres éléments décelés.

3.5.5. MESURE DES PHOSPHATES

3.5.5.1. Généralités

Parmi les sels nutritifs présents dans les eaux, nous avons envisagé la recherche des phosphates et des nitrates.

Le phosphore n'existe pas à l'état libre dans la nature, mais il y est très répandu sous forme de sels d'acide orthophosphorique : les phosphates.

Rappelons que si les dihydrophosphates (MH_2PO_4) sont solubles les hydrophosphates (M_2HPO_4) le sont peu et les phosphates (M_3PO_4) ne le sont pratiquement pas et, de ce fait, inassimilables tels quels par les plantes.

On trouve également le phosphore dans la matière animale et végétale, sous forme de combinaisons organiques variées, principalement des phosphates de calcium ($Ca_3(PO_4)_2$) et des esters phosphoriques (ATP, etc.). Il convient de prendre aussi en considération les composés phosphatés introduits par l'homme dans la nature.

Certaines espèces de micro-organismes peuvent, sans excréter d'acides, assimiler les phosphates naturels, voire les accumuler sous forme de polyphosphates. Après leur lyse, il y aura un transfert du minéral vers la plante. (TARDIEUX-ROCHE, 1966). SVERDRUP et al. (1946) décrivent la distribution des phosphates en mer en 4 couches distinctes :

- 1) une couche de surface, à répartition uniforme et à basse concentration.
- 2) Une couche sous-jacente où la concentration augmente rapidement avec la profondeur.
- 3) Une couche de concentration maximum localisée entre 500 et 1500 m.
- 4) La couche la plus inférieure, assez constante.

Les auteurs citent, le chiffre maximum de 2 μ mole/l dans les mers et le chiffre maximum de 1 μ mole/l dans l'océan Atlantique.

Lors d'une série d'investigations en mer du Nord (DARTEVELLE 1971) nous avons relevé une concentration $<1 \mu \text{ mole/l}$ depuis la haute mer jusqu'à 1 mile de l'estacade de Nieuwpoort.

Au fur et à mesure que l'on se rapproche de la côte, les valeurs s'élèvent graduellement pour atteindre $5 \mu \text{ mole/l}$ au niveau de l'estacade.

Nous verrons que les valeurs mesurées dans les sables sont plus élevées.

La dissolution des composés minéraux du phosphore a lieu notamment, par l'action du CO_2 et des différents acides produits par les micro-organismes.

MICHOUSTINE (1972) a réalisé une expérience en vue d'élucider le pouvoir salubilisant de quelques acides organiques fréquemment rencontrés dans les cultures microbiennes. Il décrit ainsi le pouvoir des acides butyrique, gluconique, succinique, oxalique et de divers céto-acides comme l'acide cétogluconique. L'auteur a également vérifié le pourcentage de phosphate de calcium solubilisé par différents microbes. Les résultats prouvent que les champignons développent la plus grande activité et que, parmi les bactéries testées, *Bacillus megaterium* vient en première place.

3.5.2.2. Techniques

La recherche est centrée sur les orthophosphates dissous. L'eau est soumise à une ultrafiltration sur membrane de $0,45 \mu\text{m}$ qui élimine les organismes vivants ou morts et la majorité des matières colloïdales (OLSEN, 1966).

Nous utilisons la détermination colorimétrique basée sur la couleur bleue résultant de la réduction du phosphomolybdate jaune (STRICKLAND et PARSONS, 1972).

3.5.5.3. Résultats

Tableau n° 10. - Concentration de l'eau interstitielle exprimée en μ moles de PO_4^{3-} par litre d'eau.

Données numériques

Date	Points de prélèvement (Réf. Fig. 1, page 23)							Moyenne selon la date
	1	2	3	4	5	6	7	
5.10.73	-	-	5,7	-	8,4	16,5	19,5	12,5
5.12.73	11,0	8,5	18,0	12,0	9,0	37,0	8,0	14,8
10.1.74	9,0	2,0	1,0	10,0	26,0	2,0	15,0	9,3
31.1.74	13,0	9,0	5,7	1,0	12,0	6,0	<0,5	6,7
6.3.74	9,0	1,75	2,0	9,0	8,5	7,5	4,5	6,0
11.4.74	14,0	30,0	40,0	9,0	12,0	9,0	9,0	17,6
7.6.74	19,0	16,0	18,0	15,0	10,0	4,5	25,0	15,4
Moyenne selon l'endr.	12,5	11,2	12,9	9,3	12,3	11,8	11,6	

Analyse de la variance

Sources de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Totale	46	3492,470		
Factorielle	6	51,576	8,596	
Résiduelle	40	3440,894	86,022	10

$$F_{0,95} = 2,34 . H_0 \text{ est rejeté.}$$

3.5.5.4. Discussion

La moyenne de la concentration en orthophosphates est irrégulière, avec une tendance minimale de janvier à mars.

L'analyse de variance indique que la moyenne établie en fonction de l'endroit de prélèvement est encore plus irrégulière que celle calculée en fonction des saisons. On ne peut en tirer de conclusions car les variations n'ont pas de tendance bien définie. Elles indiquent peut-être des micro-environnements plus ou moins bien pourvus en matières organiques.

L'influence du chenal de Nieuwpoort, avec ses apports d'origine terrigène, n'est certainement pas négligeable non plus.

En tout état de cause, le milieu n'est pas déficitaire en phosphates, si on le compare à l'eau de mer où ils sont de 2 à 10 fois moins abondants.

3.5.6. MESURE DES NITRATES ET DES NITRITES

3.5.6.1. Généralités

Au cours de leur croissance, les bactéries utilisent près de 5 fois plus d'azote que de phosphore. Mais si ce dernier peut faire défaut, on considère que l'azote est toujours trouvé en suffisance. Certaines bactéries peuvent même le capter directement dans l'atmosphère (fixation de l'azote moléculaire).

Les plantes exigent généralement l'azote sous forme de nitrates. Elles le réduisent en azote organique qui servira aux animaux puis aux micro-organismes. Certains d'entre ces derniers, les ammonificateurs, libéreront l'ammoniac, tandis que les nitrificateurs oxyderont à nouveau cet ammoniac et boucleront ainsi le cycle de l'azote.

Les nitrates sont des composés très solubles, donc facilement emportés par les eaux et amenés dans les océans.

La teneur des eaux en nitrates a souvent été considérée comme un critère de leur fertilité car on les tenait comme la principale source d'azote pour le plancton.

FERGUSON-WOOD (1967) estime que les nitrates représentent tout autant l'absence d'organismes pouvant utiliser l'azote oxydé.

Outre les végétaux, de nombreux micro-organismes anaérobies utilisent le nitrate en tant qu'accepteur final d'électrons ; ils produisent de ce fait des nitrites.

D'autres encore peuvent conduire la dénitrification jusqu'au stade de l'azote gazeux qui s'échappe dans l'atmosphère. A titre exemplatif, figurent ci-dessous quelques chiffres cités par ZOBELL (1946) au départ de sédiments prélevés dans l'océan Pacifique :

Sur 930.000 aérobies par g. de sédiments de surface il relève :

100.000 ammonificateurs (Peptone → NH ₄)	soit 10,8 %
100 fermenteurs d'urée (Urée → NH ₄)	0,01 %
10.000 protéolytiques (Peptone → H ₂ S)	1 %

100 dénitificateurs ($\text{NO}_3 \rightarrow \text{N}_2^\uparrow$)	0,01 %
100.000 nitrates-réducteurs ($\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$)	10,8 %
0 nitrificateur ($\text{NH}_4 \rightarrow \text{NO}_2$)	0 %
1000 sulfato-réducteurs ($\text{SO}_4 \rightarrow \text{H}_2\text{S}$)	0,1 %

On constate ici que les nitrates-réducteurs sont aussi nombreux que les ammonificateurs. Les nitrificateurs font curieusement défaut dans le cycle. Quoique leur présence ne soit pas démontrée, l'auteur estime qu'ils existent mais la culture de ces autotrophes présente certaines difficultés. Il cite CAREY (1938) qui pense que la nitrification est un phénomène de surface, les nitrificateurs du fond étant amenés au niveau de la couche planctonique par le mélange vertical des eaux.

Ces chiffres pourront utilement être comparés à ceux que nous avons trouvés dans le sable intertidal (Réf. Par. 5.5.).

LAGARDE (1964) qui a étudié le pouvoir dénitritifiant de 3 horizons sédimentaires saumâtres et marins, a trouvé un pouvoir dénitritifiant très élevé à l'interface d'une station lagunaire hautement polluée, riche en matériel organique. Sur l'horizon marin sableux stable le pouvoir dénitritifiant était faible.

De toute manière, la présence de nitrites est souvent en relation avec la dénitritification bactérienne.

Heureusement, il existe un autre groupe de bactéries (les *Nitrobacter*) qui reprennent les nitrites disponibles pour les oxyder à nouveau en nitrates. Comme on le voit, le cycle de l'azote est un processus très complexe et les bactéries y interviennent à tous les niveaux.

Au cours d'une campagne océanographique estivale effectuée en mer du Nord, nous avons eu l'occasion de relever les concentrations de l'eau en nitrites. Sur une transversale à hauteur de Nieuwpoort, nous avons mesuré une concentration $< 0,5 \mu\text{mole/l}$ au large, avec une augmentation progressive en approche de la terre pour atteindre $1,25 \mu\text{mole/l}$ à 300 m de la côte et $2,25 \mu\text{mole/l}$ à l'entrée du chenal.

Lors de relevés parallèles à la côte, nous avons trouvé un maximum de 4 à 6 $\mu\text{moles/l}$ entre De Haan et Zeebrugge et 10 $\mu\text{moles/l}$

dans l'estuaire de l'Escaut.

3.5.6.2. Techniques

Le nitrites et les nitrates ont été dosés au moyen d'un appareil automatique de type "Technicon" basé sur le principe de la réaction colorimétrique de GRIESS.

3.5.6.3. Résultats

Les résultats de la concentration en nitrites et nitrates sont présentés dans le tableau 11.

Dates	Points de prélèvement (Réf. Fig. 1 page 23)														Moyenne selon la date	
	1		2		3		4		5		6		7			
	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-		
27.3.73	0,30	90	0,30	39	-	-	0,63	11,5	0,37	6,6	-	-	-	-	0,40 36,78	
18.7.73	-	-	0,32	9,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,32 9,0	
5.10.73	< 1	21	-	-	0,64	6,7	0,5	8,0	0,5	9,6	0,52	6,4	0,64	6,0	0,63 9,62	
5.11.73	< 1	21	7,0	110	1,1	13	1,7	20,5	1,3	17	1,1	19	-	-	2,20 33,42	
5.12.73	< 0,5	23	< 0,5	4,0	0,6	3,0	< 0,5	2,0	0,5	7,5	0,5	1,0	< 0,5	7,0	< 0,5 6,79	
10.1.74	1,2	90	0,8	12,5	2,0	17,5	< 0,5	2,5	1,15	9,0	0,5	4,0	< 0,5	4,5	0,95 20,0	
31.1.74	< 0,5	45	1,20	13,75	0,5	9,5	1,4	17,5	1,65	12,5	0,6	9,5	1,5	42,5	1,05 21,46	
6.3.74	1,25	975	0,5	7,5	1,0	3,5	3,0	100	1,6	38,0	1,2	6,5	0,9	25	1,35 39,71	
11.4.74	1,1	51	0,5	3,0	0,75	1,5	0,8	< 0,5	0,6	2,0	0,9	1,5	0,6	4,5	0,75 9,14	
7.6.74	82,5	150	0,5	112,5	1,0	5,0	< 0,5	< 5,0	1,0	< 5,0	1,8	20	0,8	< 5,0	12,59 43,21	
Moyenne selon l'endr.	9,93	65,39	1,29	34,58	0,95	7,46	1,06	18,61	0,96	11,90	0,89	8,49	0,78	13,50		

Tableau n° 11.- Concentration de l'eau interstitielle en μ moles de NO_2^- et NO_3^- par litre d'eau.

3.5.6.4. Discussion

Les teneurs en nitrites sont faibles et d'un ordre de grandeur semblable à celui rencontré en mer du Nord, au large des côtes. Quoique manifestant une légère tendance à la diminution lorsqu'on se dirige vers la zone infralittorale, elles ne varient guère en fonction des saisons ou de la localisation.

La moyenne plus élevée au point 1 (Réf. Fig. 1, page 23) est l'expression d'une concentration importante relevée un jour du mois de juin 1974.

Les teneurs en nitrates sont plus fluctuantes. Elles sont, en moyenne, une dizaine de fois plus élevées que celles des nitrites ; on ne peut cependant apprécier une différence entre elles, en fonction des saisons.

Il n'en est pas de même d'un point de vue "localisation". En effet, la concentration aux points 1 et 2 (Réf. Fig. 1, page 23) est nettement plus élevée qu'aux autres points.

Nous tenterons, plus loin, d'interpréter ce fait en fonction du peuplement bactérien mais il se pourrait que l'oxydation des nitrites en nitrates soit favorisée par l'aérobiose.

Les autotrophes des genres *Nitrobacter* et *Nitrocystis*, par exemple, qui oxydent les nitrites en nitrates, sont des germes aérobies. Or, nous avons pu constater que la concentration en oxygène dissous augmente en direction de la zone supralittorale.

Par contre, la réduction des nitrates serait favorisée vers la zone infralittorale, en terrain anaérobie, où les bactéries adéquates s'en servent comme accepteurs finaux d'électrons en lieu et place de l'oxygène.

3.5.7. MESURE DES SULFATES

Nous n'avons pas mesuré les concentrations en sulfates, mais leur présence est prouvée par l'abondance des sulfato-réducteurs que nous avons pu aisément mettre en évidence (Réf. Par. 6.1.).

En effet, la croissance des organismes sulfato-réducteurs est impossible en l'absence complète de sulfates, mais HATA et al. (1964) ont démontré que $2,4 \cdot 10^{-4}$ mole/l de SO_4^- est suffisante pour assurer cette croissance de façon normale.

Ces sulfates apparaissent entre autres par la décomposition microbienne et l'oxydation de composés sulfurés.

3.5.8. MESURE DE LA MATIERE ORGANIQUE - RAPPORT CARBONE/AZOTE

3.5.8.1. Généralités

Selon VAN MEEL (1972), un des problèmes les plus préoccupants pour l'hydrobiologiste et pour l'hygiéniste est l'existence en eau douce aussi bien qu'en eau de mer, de la matière organique. Celle-ci est d'origine animale ou végétale et provient de l'excrétion des organismes vivants, de la décomposition de ceux-ci après leur mort ainsi que des polluants organiques.

Cet auteur considère qu'il est difficile, sinon impossible de faire une discrimination analytique rigoureuse entre les matières organiques de l'une ou l'autre origine. Une des méthodes utilisées pour les doser est basée sur leur oxydation par l'oxygène, d'où la recherche du pouvoir réducteur de l'eau de mer.

Peu d'études ont été effectuées sur la cinétique de décomposition de ces substances. Mais il est évident qu'à tous les stades, elles servent de substrat organique à de nombreuses bactéries hétérotrophes et, qu'enfin, les petites molécules terminales non utilisées, seront réminéralisées par les chimiotrophes qui bouclent ainsi le cycle vital.

Encore en suspension, les matières organiques seront déjà colonisées par les bactéries qui choisissent généralement la fixation à un support de préférence à l'état strictement planctonique (BRISOU et RIGOMIER, 1968).

Mais ces matières, une fois transformées et solubilisées (ou ayant été excrétées sous forme soluble), forment également un substrat organique favorable. FERGUSON WOOD (1967) considère d'ailleurs que le rôle principal des bactéries marines serait de reconvertisir la matière organique dissoute en matière particulaire "sous forme de bactéries" et aussi de scinder les substances organiques complexes en matières plus simples.

KROCH (1934) a calculé que l'eau de mer contient 4 à 5 mg de matières organiques totales au litre, soit 1/5000 de la teneur normale d'une terre de jardin.

BRISOU et al. (1965) ont trouvé une moyenne de 4,02 mg sur 150 échantillons d'eau de mer, avec des extrêmes de 17,5 et 1,3 mg/l. Des mesures effectuées en mer par SENEZ (1950), font état de moins de 1 % de matières organiques en eau profonde, de 10 % dans les fonds d'eau stagnante riches en H_2S et de 2,5 % près du rivage. Il considère que, contrairement à l'eau libre, les sédiments marins sont remarquablement riches en matières organiques et, ce, d'autant plus que le sédiment y est plus fin. D'une manière générale, le carbone y prédomine sur l'azote dans un rapport moyen de C/N = 11, avec accroissement du rapport suivant la profondeur.

Selon WAKSMAN (1933), les composés azotés seront en effet décomposés plus rapidement dans les couches anaérobies. Cet auteur cite les chiffres de 8 à 10 pour le rapport C/N de l'humus marin.

HO et LANE (1973) ont vérifié la composition de l'eau interstitielle dans la baie de Barataria, en Louisiane. La zone influencée par l'eau douce est plus riche en matières organiques que celle influencée par l'eau de mer. Cette dernière a une teneur en azote total de 18,82 mg/l dont 38,95 % d'acides aminés libres, 13 % d'acides aminés combinés et 34,27 % de NH_4^+ . Malheureusement, la teneur en carbone total n'a pas été déterminée. Le phosphore total atteint en moyenne 1,77 mg/l.

MAIER et Mc CONNEL (1974) ont mesuré la concentration en carbone organique et inorganique dans des lacs et rivières du Minnesota. Ces études présentent un intérêt croissant en biologie, qu'il s'agisse de vérifier la productivité des eaux naturelles, un niveau de pollution ou l'hygiène des eaux destinées à la consommation.

Les mesures de B.O.D. et de C.O.D. sont une approximation de la concentration totale car les matières difficilement dégradables ne sont pas détectées. L'analyseur de carbone fournit des résul-

tats qui s'approchent plus de la réalité. Les auteurs insistent sur le fait que l'analyseur détectera également la matière organique difficilement bio-dégradable et ils soulèvent l'intéressant problème de l'accumulation de celle-ci dans notre environnement. Leurs résultats indiquent que toutes les eaux naturelles contiennent de substantielles concentrations en carbone organique. Les valeurs qu'ils ont obtenues oscillent entre 5 et 30 mg/l.

DEGENS et MOPPER (1975) rappellent que la matière organique des sédiments marins dérive surtout de débris planctoniques composés principalement de protéines et d'hydrates de carbone : ceci, par opposition à la matière organique des sols composée surtout de lignine et de cellulose.

Il faut prendre également en considération les matières amenées par les rivières, qui constituent la principale source de sédimentation organique de certaines régions côtières (GADEL et al., 1975).

Nous n'avons pas trouvé d'ouvrages traitant de la matière organique contenue dans les sables littoraux. DELAMARE-DEBOUTEVILLE (1960) qui a effectué une analyse très fouillée de la biologie des sables, cite un seul document concernant les eaux psammiques au bord des lacs de Pologne (STANGENBERG, 1954). Ceci n'est pas applicable aux rivages maritimes pour lesquels nous manquons de données.

En conséquence, il nous a paru utile de commencer par une détermination du rapport C/N dans les matières organiques particulières de l'eau interstitielle afin de le comparer au rapport C/N de l'humus marin et à celui des sols.

Nous avons centré nos analyses sur la matière organique particulière pour la raison suivante : il pourrait sembler, au premier abord, qu'une importante masse de sable joue le rôle de filtre envers les matières en suspension en provenance de la mer. Or, ces matières sont abondantes à tous les niveaux. Nous les retrouvons, décantées, sur le fond de chacun des récipients dans lesquels nous avons recueilli de l'eau interstitielle. Une partie est probablement amenée par l'eau circulante mais elle

doit de toute évidence, contenir les débris cellulaires des organismes morts sur place.

Le temps de décantation dont nous parlerons dans la technique, est suffisant pour éliminer la majorité des Nématodes, seule microfaune métazoaire abondante à ce niveau. Les Foraminifères et les Ciliés rampants se déposent également.

Nous ne pouvons éviter de garder en suspension des Ciliés nageurs, des Flagellés et des Bactéries.

La filtration est impraticable puisqu'elle supprimerait, par la même occasion, toute la matière particulaire que nous désirons analyser.

A l'examen au microscope optique, le culot de centrifugation ne semble composé que de déchets cellulaires (débris d'algues, cuticules de Nématodes, spicules de spongiaires, tests de mollusques, frustules de Diatomées etc...). D'ailleurs, ce qui nous importe, en fin de compte, est d'obtenir un aperçu global des déchets organiques offerts à l'attaque bactérienne ; il importe peu qu'y soient mêlés quelques organismes vivants ; ceux-ci font partie du tout venant microbien qui, finalement, sera l'objet d'une réduction. Cette masse infime ne peut pas influencer notablement les résultats.

3.5.8.2. Techniques

Etant donné les considérations précédentes, nous avons recueilli l'eau en profondeur, dans la partie supérieure de la plage.

Le fond de l'entonnoir creusé dans le sable était remué afin de mettre les particules en suspension.

Un temps d'attente permettait au sable et aux éventuels macro-organismes de se déposer ; après quoi, l'eau était recueillie à concurrence de quelques litres.

Cette eau était décantée durant plusieurs heures à basse température. La majeure partie du surnageant était ensuite éliminée et la fraction restante était centrifugée à 3000 tours/min durant 20 minutes. Le culot de centrifugation était séché, pesé, broyé, puis introduit dans l'analyseur.

La quantité de matière suffisante pour une analyse était de

l'ordre de 30 à 50 mg.

3.5.8.3. Résultats

L'analyse a été effectuée au moyen d'un microanalyseur, au laboratoire de chimie de l'Ecole Technique Supérieure d'Oostende.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

- Mé lange de 2 eaux interstitielles provenant des points 1 et 2, c.à.d. de profondeurs respectives de 1,5 m et 1 m. Novembre 1974.

Analyse totale 6,75 % de carbone
1,0 % d'hydrogène
0,5 % d'azote

Après calcination reste 24,52 %
d'où 75,48 % de matières oxydables

Analyse de la
matière oxydable 27,52 % de carbone
4,12 % d'hydrogène
2,05 % d'azote

Rapport C/N $\frac{27,52}{2,05} = 13,42$

- Eau interstitielle provenant du point 1.

Rapport C/N janvier 1975 : $\frac{25,48}{1,64} = 15,54$
mai 1975 : $\frac{19,35}{1,21} = 15,99$

- Eau interstitielle provenant du point 2.

Rapport C/N janvier 1975 : $\frac{20,79}{1,87} = 11,11$
mai 1975 : $\frac{20,44}{0,96} = 21,29$

Moyenne du rapport C/N = 15,47 \pm 1,68

3.5.8.4. Discussion

ZOBELL et RITENBERG (1938), cités par BRISOU et al. (1964), ont évalué à plusieurs milliards de tonnes, les sédiments chitineux provenant chaque année des seuls Copépodes.

Selon ces auteurs, la chitine des sédiments conditionne de façon significative le rapport C/N qui atteint parfois la valeur 10. Si l'hydrolyse biologique n'avait pas lieu, on verrait une accumulation de chitine dans les sédiments et un déséquilibre du rapport C/N. Cette hydrolyse libère du CO_2 et du NH_3 en passant par différents stades tels l'acétyl-glucosamine, la glucosamine, le glucose, etc... (OKUTANI et KITADA, 1971). La chitine est ainsi, selon WAKSMAN et al (1933), un des principaux fournisseurs d'azote des sédiments marins.

Nous mentionnons ces observations qui présentent un intérêt évident et qui peuvent être comparées au rapport C/N plus élevé des sables littoraux étudiés. Remarquons à cette occasion, que nous avons rencontré quelquefois des bactéries chitinolytiques, une seule fois, une agarolytique et jamais de cellulolytiques.

Ces faits peuvent paraître étonnantes pour un milieu contenant apparemment plus d'organismes animaux que végétaux. Toutefois, la matière organique particulière recueillie, bien que présente partout dans le sable, doit être très difficilement dégradable par les micro-organismes. Nous avons soumis un échantillon à l'attaque bactérienne durant une année et il ne semble, jusqu'à présent, faire l'objet d'aucune dégradation.

Nous ne pouvons formuler des conclusions sur la base des quelques résultats que nous possédons mais il nous a paru intéressant de soulever ce problème qui mériterait une recherche approfondie.

4. BIOCENOSE MICROBIENNE

4.1. MICROFLORE

Il ne nous était pas possible, dans le cadre de cette étude, d'effectuer un inventaire systématique de la flore algale intertidale. Mais nous avons eu l'occasion de l'observer au cours de nos fréquents examens du sable et nous avons pu en tirer quelques considérations intéressantes.

ZOBELL (1946) estime que les Diatomées benthiques ne dépassent pas la zone atteinte par la lumière.

DELAMARE-DEBOUTTEVILLE (1960) remarque que plus de 95 % des algues d'eau douce littorale sont constituées de Diatomées. Elles peuvent atteindre des concentrations exceptionnellement hautes : plus de 300.000 par cm³. Il cite le chiffre de 20.000 Diatomées par cm³ sur les plages marines, particulièrement dans le cm supérieur.

GORDON (1960) cite le même chiffre de 20.000 Diatomées par cm³ sur les plages marines. Il trouve des cellules vivantes jusqu'à 10 cm de profondeur et estime que la photosynthèse est réduite au 1er cm.

FERGUSON-WOOD (1967) et d'autres avant lui constatent que les Diatomées peuvent mener une existence saprophytique aux dépens de la matière organique dissoute.

60 % des Diatomées pennées littorales marines pourraient croître hétérotrophiquement.

Ce fait concorde avec nos observations, mais nous estimons en outre que cette particularité physiologique liée à la forme et à la mobilité leur permet de s'accorder aisément des profondeurs et de l'obscurité.

Si, en surface, les Diatomées centriques sont abondantes, nous ne retrouvons en profondeur que leurs frustules. Par contre, tout le sous-sol littoral contient des Diatomées pennées, bien vivantes.

Dans toutes nos observations de micro-environnement sous le microscope, nous les avons retrouvées se glissant aisément entre les grains de sable. Il nous a paru que plus la profondeur augmente dans le sable plus les formes deviennent effilées et

mobiles. Il est difficile de les déceler à la loupe binoculaire.

Citons, notamment, une espèce de Diatomée que nous avons trouvée en grande quantité en profondeur de la zone supralittorale. Elle appartient au genre *Nitzschia* et, probablement, au groupe des Spathulatae. Nous avons pu la cultiver en laboratoire, à la lumière et à l'obscurité. A la lumière, le corps se déforme légèrement, tandis que deux grosses inclusions apparaissent de part et d'autre du noyau.

A l'obscurité, les plastes sont plus petits mais l'organisme conserve sa forme et sa mobilité. Il a une longueur moyenne de 40 μm .

Parmi les autres algues le plus souvent remarquées, se trouve une algue verte, vivante en surface mais détruite dès les premiers cm. Elle paraît assez résistante à la destruction totale et l'habitude de l'observer nous permet de retrouver son squelette, débarrassé des chromatophores jusqu'à plusieurs dizaines de cm de profondeur. Ses résidus font probablement partie des matières en suspension que nous avons recueillies pour en examiner le contenu en carbone et en azote (Réf.Par. 3.5.8.).

4.2. MICROFLORE

4.2.1. Les levures

Selon KREGER-VAN RIJ (1962) les levures sont distribuées dans 3 principaux groupes taxonomiques de champignons :

- les Ascomycètes,
- les Basidiomycètes,
- les Fungi imperfecti.

Ces micro-organismes se reproduisent par bourgeonnement, quelquefois par fission. Certains peuvent former du mycelium ou du pseudo-mycelium.

Ils sont généralement mésophiles, halotolérants et supportent un large rang de pH.

Si les bactéries sont nombreuses, on peut utiliser un milieu sélectif acide (pH 3, 5-4) ou additionné d'antibiotiques, pour la mise en évidence des levures.

La culture en anaérobiose permet d'éviter la prolifération des moisissures.

FERGUSON-WOOD (1967) remarque que les levures terrigènes sont abondantes dans les estuaires et que 2 genres, *Candida* et *Cryptococcus* (Fungi imperfecti) peuvent être considérés comme endémiques dans les océans.

BRISOU et al. (1970) ont d'ailleurs étudié l'aspect clinique des levuroses contractées en milieu marin et notamment les candidoses.

Dans des études quantitatives, FELL (1965) cite le nombre de 500 cellules/l dans l'océan Indien et 5000 cellules/l dans la région des "Bahama Banks".

FELL et VAN UDEN (1963) comparent les nombres de levures en mer donnés par divers auteurs. Ces chiffres vont de 13 à 438 germes au litre en moyenne, avec des extrêmes de 0 à 4000. KRISS (1959) insiste sur le fait qu'il a trouvé des levures dans la mer Noire au niveau de la zone d' H_2S .

VAN UDEN et FELL (1968) pensent que les populations de levures atteignent leur plus haute densité dans les habitats terrestres, leur plus faible densité en mer et que, dans les zones littorales, la densité est intermédiaire.

Des boues intertidales, à 2 stations de la côte japonaise, contenait un maximum de 2000 levures viables par g de boue (SUEHIRO 1963).

Dans nos travaux, nous ne nous sommes pas préoccupé autre mesure de ces détections. Toutefois, le milieu nutritif utilisé pour le dénombrement des bactéries du sable est favorable à la croissance de nombreuses levures. C'est ainsi que nous avons pu en rencontrer quelques-unes et ceci à différents niveaux. Nous nous bornons donc à confirmer leur présence dans les sables littoraux, en surface et en profondeur.

Trois d'entre elles ont été isolées.

Elles ont donné des colonies roses, blanches et jaunes.

Leurs caractères communs sont l'halophilie facultative et l'absence de nitrate-réductase.

Elles diffèrent dans leurs capacités d'oxyder tel ou tel glucide et de pratiquer ou non l'uréolyse.

Les autres caractères n'ont pas été examinés.

4.2.2. Les moisissures

La présence abondante de diverses espèces de moisissures a également été remarquée, avec décroissance quantitative de la surface vers la profondeur du sable. Elles envahissent fréquemment les boîtes de cultures bactériennes.

Nous avons déjà mentionné (Réf. Par. 3.2.) leur rôle dans le remaniement des sols.

Nous avons, en effet, pu observer l'attaque d'un grain de sable non siliceux par les champignons et les actinomycètes. Il s'agit vraisemblablement d'un phycomycète ou champignon inférieur car le mycelium n'apparaît pas cloisonné. Les Actinomycètes (bactéries à structure mycélienne) se distinguent par leur diamètre largement inférieur.

4.3. MICROFAUNE

La microfaune interstitielle littorale a été remarquablement étudiée du point de vue morphologie, peuplement et comportement, par CHAPPUIS, PENNAK, REMANE, SWEDMARK et bien d'autres.

Elle est beaucoup mieux connue que la microflore interstitielle et il ne nous paraît pas nécessaire de nous y attarder longuement.

Nous avons nous-même observé des petits Copépodes (surtout des Harpacticides), Isopodes, Mystacocarides, Amphipodes, Ostracodes, Oligochètes, Polychètes etc... mais quantitativement ils sont peu nombreux. Notre intérêt se portait vers les Ciliés particulièrement bien représentés, et nous les avons étudiés plus en détail dans le paragraphe suivant qui leur est consacré.

Il est utile de souligner qu'à part les Ciliés et Flagellés, la faune la mieux représentée dans nos plages est celle des Nématodes. C'est également le groupe le mieux connu et certaines espèces sont propres aux eaux souterraines littorales. Ils supportent aisément l'anaérobiose (THEEDE, 1973, OTT et SCHIEMER, 1973). On connaît mal leurs habitudes alimentaires. WEBB (1956) a pu voir qu'ils ingèrent de petites Diatomées et des amas de bactéries mais elle n'a jamais pu vérifier s'ils se nourrissent aussi de Protozoaires.

Cependant NIELSEN (1967), cité par MIGNOLET (1972), suggère de diviser les Nématodes en 3 groupes écologiques :

- les espèces s'alimentant de liquides obtenus en perçant les racines et les membranes cellulaires ;
- les espèces se nourrissant particulièrement de bactéries et d'algues (cas de la majorité des Nématodes libres) ;
- certaines espèces s'attaquant à des organismes relativement grands tels les Protozoaires, les Nématodes et les Rotifères.

A ces 3 groupes, on adjoint une quatrième catégorie regroupant les Nématodes à régime alimentaire inconnu.

Le problème nous intéresse et nous avons fait quelques expériences en leur présentant des Ciliés microphages dont les vacuoles digestives étaient colorées soit par du rouge neutre soit par du formazan. L'expérimentation n'est pas aisée car il faut laver les Ciliés avant de les leur servir, ensuite laver les Nématodes

et enfin, pratiquer une semi-dissection de ceux-ci. Or ces petits Nématodes libres ont une longueur qui voisine le mm, avec un diamètre en conséquence. Nous devrons poursuivre ces travaux quelque temps avant de pouvoir en publier les résultats.

Après les Nématodes, le groupe le plus abondant est celui des Foraminifères. Leur taille exigüe et leur morphologie leur permet d'être déplacés dans la zone de circulation de l'eau. Nous les avons retrouvés, mêlés aux grains de sable, quelle que soit la profondeur atteinte.

Le Protozoaire le plus abondant reste le Flagellé. Nos sables sont envahis de ces petits organismes bi-flagellés mangeurs de bactéries. Leur examen au microscope optique à fort grossissement ne permet pas d'en apprécier la morphologie tant ils sont minuscules (5 à 6 μ m). Ils peuvent s'enkyster et se reproduisent abondamment dès que le milieu devient saprobe.

Il reste à mentionner un organisme que nous n'avons pas pu identifier, non plus que plusieurs spécialistes à qui nous l'avons soumis : qu'ils soient algologues, protistologues ou palynologues. Nous ne l'avons trouvé qu'en profondeur à raison de plusieurs dizaines par 100 ml d'eau.

Il se présente sous la forme d'une coque en général ovale (quelquefois sphérique) lisse, brunâtre, solide avec assez de souplesse que pour se déformer sous la pression sans toutefois se briser. Cette coque est pourvue d'une ouverture circulaire, apicale ou légèrement latérale. L'opercule se retrouve quelquefois à l'intérieur de la coque.

Ceci ne constitue, bien entendu, que la description du "squelette".

Cependant, un certain pourcentage de ces petites coques est entouré, "habillé" d'une sorte de membrane flottante à mailles lâches, l'entourant complètement de manière non régulière. Il semblerait que ceci correspondrait à la forme flottante des individus (ou des "oeufs").

De surcroit, certaines de ces formes flottantes (ou potentiellement flottantes) contiennent ce qui nous paraît être un kyste sphérique (à moins qu'il ne s'agisse de l'opercule) dont le diamètre

correspond à l'ouverture de la coque ; en pressant celle-ci entre lame et lamelle, nous avons pu observer la sortie de ce "kyste".

En dépit de nos multiples essais, en aérobiose ou anaérobiose, à la lumière ou à l'obscurité, sous des températures différentes, nous n'avons pas réussi à observer d'exkystement.

Afin de juger de la composition de ces coques, nous les avons soumises à l'attaque bactérienne de 2 souches chitinolytiques ; un *Bacillus* isolé du sable et une *Klebsiella* isolée de l'estuaire de l'Escaut.

Non seulement aucune chitinolyse n'a été observée mais il apparaît même des zones d'inhibition bactérienne tout autour des coques.

Soumises à une solution d'acide fluorhydrique à 70 %, elles ont résisté à la destruction, ce qui permet d'envisager une composition analogue à celle de la sporopollénine, polymère organique complexe qu'on retrouve dans le pollen et dans les coques de Chitinozoaires : organismes fossiles que les paléontologues ont pu retrouver dans les terrains ordoviciens et qui contiennent encore quelquefois l'opercule.

Les organismes que nous avons observés ne peuvent actuellement être rattachés à aucun groupe connu.

4.4. FAUNE INFUSORIENNE

4.4.1. Généralités	86
4.4.2. Répartition	87
4.4.3. Caractéristiques	88
4.4.4. Techniques	89
4.4.4.1. Observation des espèces microporales	90
4.4.4.2. Observation des espèces non microporales	90
4.4.4.3. Observation des espèces bactériophages	91
4.4.4.4. Observation des kystes	92
4.4.5. Résultats	93
4.4.5.1. Nomenclature et description sommaire de la faune observée <i>in vivo</i>	93
4.4.5.1.1. HOLOTRICHES GYMNSTOMES	93
4.4.5.1.1.1. Famille des <i>Trachelocercidae</i>	93
4.4.5.1.1.2. Famille des <i>Amphileptidae</i>	94
4.4.5.1.1.3. Famille des <i>Loxodidae</i>	94
4.4.5.1.1.4. Famille des <i>Geleidae</i>	94
4.4.5.1.1.5. Famille des <i>Chlamydomontidae</i>	94
4.4.5.1.2. HOLOTRICHES HYMENOSTOMES	94
4.4.5.1.2.1. Famille des <i>Frontoniidae</i>	94
4.4.5.1.2.2. Famille des <i>Pleuronematidae</i>	95
4.4.5.1.2.3. Famille des <i>Cohnilembidae</i>	95
4.4.5.1.3. SPIROTRICHES HETEROTRICHES	95
4.4.5.1.3.1. Famille des <i>Condylostomidae</i>	95
4.4.5.1.4. SPIROTRICHES HYPOTRICHES	
4.4.5.1.4.1. Famille des <i>Oxytrichidae</i>	95
4.4.5.1.4.2. Famille des <i>Euplotidae</i>	95
4.4.5.2. Description détaillée de 2 espèces bactériophages présentes dans la majorité des échantillons quel que soit leur niveau de prélèvement.	96
4.4.5.2.1. <i>Uronema marinum</i> Dujardin, 1841	96
4.4.5.2.1.1. Remarque	96
4.4.5.2.1.2. Comportement et description	96
4.4.5.2.2. <i>Euplates raikovi</i> Agamaliev, 1966	97
4.4.5.2.2.1. Remarque	97
4.4.5.2.2.2. Comportement et description	98
4.4.6. Discussion	102

4.4.1. Généralités

Les Protozoaires Ciliés sont, avec les Flagellés, les animaux les plus abondamment représentés dans nos sables littoraux. Ils sont pour le microbiologiste d'un extrême intérêt. DIVE (1973) dénombre de 10 à 100 Ciliés/ml dans certains étangs ; PENNAK (1951) 800/ml au fond d'un lac ; LACKEY (1936) 27 à 135/ml dans l'eau de mer.

Nous n'avons pas trouvé de chiffres concernant les sables littoraux, mais 200/gr de sable nous paraît une première approximation. En effet, une effilure de pipette Pasteur emplie de sable et d'eau, prélevés à 20 ou 30 cm sous la surface, contient en moyenne 30 mg de sable sec et 6 Ciliés.

Il s'agit là d'un ordre de grandeur. Nous verrons plus loin qu'un micro-environnement favorisant la croissance bactérienne verra apparaître rapidement une prolifération intensive de Ciliés microphages, suivie à son tour d'une prolifération de Ciliés prédateurs.

Plusieurs années d'observation du milieu interstitiel nous ont convaincu de l'omniprésence des Ciliés et du rôle essentiel qu'ils jouent dans l'économie générale de ce milieu. Ce rôle a surtout été mis en évidence par REMANE (1933 et 1940) mais en 1915 déjà CALKINS étudiait leur biologie, en 1923 LWOFF étudiait leur mode de nutrition et en 1931 LUCK et al. augmentaient encore nos connaissances sur le rôle des bactéries en tant que source nutritive pour les Protozoaires.

Depuis cette époque, de très nombreux ouvrages ont été écrits sur ce sujet. Actuellement l'attention des chercheurs a tendance à se porter sur l'étude des possibilités que ce type de nutrition entraîne dans l'épuration naturelle et artificielle des eaux, ainsi que le soulignait DIVE en 1973.

L'importance des Ciliés en tant que vecteurs de bactéries ou de virus n'est pas non plus négligeable. Ainsi JADIN (1974) met en évidence des acido-résistants du type *Mycobacterium lepreae* dans des amibes et nous-mêmes obtenons actuellement d'abondantes

cultures de *Spirillum* (réputés difficilement cultivables), en les maintenant en culture avec certains Ciliés psammophiles (symbiose ou commensalisme).

En ce qui concerne les études taxonomiques, l'important ouvrage de KAHL (1930 à 1935) fait toujours autorité, quoique de nombreuses modifications aient été proposées. La dernière en date est celle de CORLISS (1974).

Les Ciliés psammophiles littoraux en particulier ont fait l'objet d'études écologiques approfondies, notamment par FAURE-FREMIET (1950) et DRAGESCO (1960 et 1963).

Ces auteurs ont établi des inventaires systématiques auxquels nous nous référerons la plupart du temps.

Avant FAURE-FREMIET (1950), 84 espèces étaient décrites ; DRAGESCO (1960 et 1963) en décrit 245 et suppose qu'il doit en exister plus de 700.

4.4.2. Répartition

Selon FAURE-FREMIET (1950) la dimension des sables n'est intéressante que par son inverse c'est-à-dire par la dimension des interstices compris entre les grains. Ce sont en effet les espaces libres remplis d'eau qui constituent le milieu habitable par le mésopsammon.

Le volume de cet espace interstitiel dépend essentiellement de la grosseur et de la forme des grains.

Nous référant aux chiffres cités par FAURE-FREMIET (1950), nous pouvons considérer que nos sables littoraux peuvent contenir un volume d'eau de 42 à 44 % du volume total. La dimension des grains varie en effet de 60 à 400 μm avec une moyenne de 200 μm (DEPUYDT, 1972), ce qui correspond à la catégorie des sables fins à très fins.

La faunule interstitielle sera ainsi désignée sous le terme de faunule microporale, par opposition à la faunule mésoporale qui habite les sables dont les grains atteignent un diamètre de 400 à 1800 μm .

La faunule euryporale par contre se rencontre dans tous les types de sables et comprend les espèces moins typiquement adaptées. Nous en avons rencontré de nombreux spécimens sur nos plages. D'autres Ciliés encore ne sont pas essentiellement psammophiles mais peuvent néanmoins se rencontrer occasionnellement dans les sables.

La plupart de ces organismes sont largement répandus dans le monde, ce qui fait suggérer par REMANE (1940) et SWEDMARK (1964) une lente progression le long des plages et un transport possible par les oiseaux.

4.4.3. Caractéristiques

La Faunule infusorienne microporale présente des caractères particuliers qui la distinguent des autres Ciliés. Il s'agit de la mobilité, de la thigmotaxie ciliaire fréquente, de l'elongabilité, de la forme rubannée ou nématomorphe lui permettant de se glisser entre les grains de sable ou de s'enrouler autour de ceux-ci. Comme le remarque FAURE-FREMIET (1950) il s'agit là d'une remarquable adaptation structurale à un système lacunaire ou poreux.

Malheureusement, il est une caractéristique plus frappante encore; ces organismes sont dotés d'une extrême fragilité qui se traduit par la cytolysé presque immédiate des individus que l'on extrait de leur milieu naturel afin de les examiner.

Il semble, toujours selon FAURE-FREMIET (1950), que les propriétés adsorbantes des surfaces granulaires à l'égard des substances organiques dissoutes et des ions minéraux, leur confèrent une valeur écologique particulière.

Celle-ci serait liée à l'orientation des molécules du type polaire - non polaire ou encore à un facteur "anti-sphering" indispensable aux Ciliés qui y sont adaptés.

Cette exigence rend la photographie sur vivant très difficile et si la fixation réussit quelquefois, elle déforme les cellules au point de ne plus présenter qu'un pâle reflet de leur morphologie réelle.

Il reste la possibilité de ne pas les séparer du sable, ce qui ne permet que l'examen à faible grossissement d'une fraction de milieu interstitiel placé en cristallisoir.

La faunule euryporale ne présente pas cet inconvénient majeur. Sa fixation et sa coloration sont aisément réalisables. Chaque fois que la chose était possible nous avons photographié les individus vivants, afin d'obtenir des documents originaux représentant des organismes non déformés.

4.4.4. Techniques

Des échantillons de sable interstitiel sont prélevés en différentes saisons, à différents points et à diverses profondeurs de la plage étudiée.

Les bocaux sont maintenus au frais. Au laboratoire, des fractions de sable et d'eau sont examinées à la loupe binoculaire, en écartant éventuellement les grains de sable au moyen d'une fine aiguille montée.

Les Ciliés y sont aisément observés, en très grand nombre. La température et la lumière ne semblent pas les affecter dans l'immédiat. Si le récipient est abandonné à la lumière et à la température du laboratoire, on observe, au cours des jours qui suivent, la disparition de certaines espèces et la prolifération d'autres (surtout les microphages).

Lorsque la croissance bactérienne est favorisée par l'apport d'élément nutritifs, la sélection opère dans le sens d'une intense profifération des espèces bactériophages. Ces dernières se rencontrent plus abondamment parmi les espèces euryporales et surtout dans les espèces non typiquement psammophyles mais présentes dans toutes les eaux légèrement saprobes.

4.4.4.1. Observation des espèces microporales

Ainsi que nous l'avons signalé plus haut, ces espèces ne résistent pas au contact du verre, quoique la cytolysse puisse être retardée de quelques secondes, en utilisant des lames très propres trempées préalablement dans de l'eau de mer.

Nous avons pu observer à la loupe binoculaire des centaines de Ciliés en ne les séparant pas du sable. Cet examen est généralement suffisant pour reconnaître la forme caractéristique des familles mais il exclut la possibilité de distinguer les espèces, de les dessiner ou de les photographier.

Néanmoins, placés rapidement entre lame et lamelle avec quelques grains de sable et un peu d'eau interstitielle, ils peuvent survivre assez longtemps que pour pouvoir être examinés au microscope (à faible grossissement).

Cet examen permet l'observation des principales caractéristiques du genre.

4.4.4.2. Observation des espèces non microporales

Ces espèces sont aisément observables au microscope.

Elles sont isolées à partir du cristallisoir, en même temps qu'un peu d'eau interstitielle, au moyen d'une micropipette, et placées entre lame et lamelle.

Nous avons pratiqué l'examen au moyen d'un microscope de type ZETOPAN muni d'un dispositif de contraste interférentiel. Ce système permet d'observer très aisément la ciliature. Les vacuoles digestives ont été mises en évidence par l'adjonction d'une microgoutte de rouge neutre à 1%.

Le macronucleus a été mis en évidence par l'adjonction d'une microgoutte d'une solution de vert de méthyle à 1 %.

L'infraciliature a été mise éventuellement en évidence par des techniques d'imprégnation argentique (CHATTON et LWOFF, 1930).

Nous avons appliqué cette dernière technique lors de la détermination des espèces *Uronema marinum* et *Euplates raikovi* (Réf. Par. 4.4.5.2.).

4.4.4.3. Observation des espèces bactériophages

Nous nous sommes intéressée plus attentivement à la mise en évidence des Ciliés bactériophages, notre thèse étant avant tout à caractère bactériologique.

L'échantillon de sable et d'eau est abandonné dans un cristallisoir à la température du laboratoire et à l'abri du soleil. Le récipient est recouvert d'une lamelle de verre permettant le passage de l'air; l'évaporation de l'eau est compensée par un apport régulier d'eau interstitielle. Il est à noter que l'atmosphère anaérobie et l'élévation du taux de salinité ne sont pas un obstacle à la croissance de nombreux Ciliés.

Un grain de peptone en poudre, ajouté à ce milieu, favorise la multiplication immédiate des bactéries. Cette multiplication est suivie d'une rapide disparition des Ciliés non adaptés et d'une grande prolifération des Ciliés bactériophages.

Lorsqu'ils sont présents dans l'échantillon d'origine, les Ciliés prédateurs vont proliférer à leur tour au détriment des Ciliés bactériophages.

Les bactéries proviennent du milieu d'origine si les manipulations sont effectuées aseptiquement. Si nous voulons mettre en évidence leur ingestion par les Ciliés, il nous suffit d'ajouter dans le cristallisoir une goutte d'une solution à 0,2 % de tryphényltetrazolium, fraîchement préparée et ajustée à pH 7,5.

La déhydrogénase bactérienne réduit les sels de tétrazolium en formazan (de couleur rouge). Comme il s'agit d'une endoenzyme les bactéries sont colorées et leur ingestion par les Ciliés entraîne la coloration des vacuoles digestives de ceux-ci. Il

est alors facile de les observer vivants au microscope et même , dans certains cas , de suivre l'évolution de leur digestion.

4.4.4.4. Observation des kystes

Il est courant d'observer l'enkyttement de certains Ciliés bactériophages cultivés en laboratoire . Cet enkyttement se produit lorsque le milieu s'épuise en éléments bactériens mais également dans le cas contraire : lorsque le développement des bactéries est tel que leurs métabolites rendent le milieu toxique.

L'observation du sable fraîchement recueilli ne permet pas l'observation des kystes, soit qu'ils échappent à l'oeil soit qu'ils reprennent très rapidement la forme végétative. Il est vraisemblable que, dans les sables, l'enkyttement se produit pour les mêmes raisons que celles citées au paragraphe précédent (manque de nourriture ou présence de toxines) et auxquelles il faut ajouter la sécheresse.

L'enkyttement de certains Ciliés est assez rapide pour leur permettre de résister à l'assèchement du sable entre deux marées dans la zone supralittorale.

Nous voudrions mentionner ici un phénomène très intéressant que nous n'avons pu observer qu'une seule fois. De ce fait, nous n'avons pas pu identifier le Cilié : toute notre attention étant retenue par le processus d'enkyttement. Il s'agissait d'un holophyte dont les vacuoles digestives contenaient de nombreuses Diatomées pennées. La ciliature uniforme et l'absence de membranelles buccales permettent de le classer parmi les Holotriches Gymnostomes, tandis que la bouche mi-ventrale le fait classer dans le sous-ordre des Cyrtophorina. Ce Cilié était placé entre lame et lamelle dans une goutte de liquide interstitiel. Il était observé au microscope à contraste interférentiel, objectif : 100x.

Le dessèchement progressif de la lame a provoqué le phénomène d'enkystement qui a duré 1h 1/2.

L'évolution du phénomène s'est poursuivie de la façon suivante:

- 1) Le Cilié s'immobilise;
- 2) Il lache assez brusquement ses trichocystes qu'on voit se répandre autour de lui;
- 3) Le nombre de vacuoles augmente;
- 4) La membrane cellulaire s'incurve au niveau du macronucléus;
- 5) Le processus se poursuit et le macronucléus s'isole de plus en plus en même temps qu'une Diatomée et un peu de cytoplasme;
- 6) Finalement, l'appendice ainsi délimité se détache. Il représente en fait une sorte de kyste contenant le macronucléus (dont on sait qu'il a un rôle somatique) et des réserves nutritives;
- 7) Dès que ce "kyste" fut détaché, la forme somatique, démunie de son macronucléus mais contenant toujours de nombreuses vacuoles, s'est remise en mouvement et a échappé à notre attention.

Malheureusement, nous n'avons pas pu observer le devenir du micronucléus (qui joue un rôle dans la reproduction).

Il s'agit d'un mode d'enkystement qui, à notre connaissance, n'a jamais été décrit. Il montre que les modalités de résistance, à l'environnement sont nombreuses et mériteraient une étude approfondie.

4.4.5. Résultats

4.4.5.1. Nomenclature et description sommaire des formes observées *in vivo*.

4.4.5.1.1. HOLOTRICHES GYMNSTOMES

4.4.5.1.1.1. Famille des *Trachelocercidae* Kent, 1880

Cytostome apical, forme allongée et contractile; fragiles. Plusieurs représentants, notamment le genre *Trachelocerca* contenant des grains de sable d'origine mystérieuse et le genre *Trachelonema*, hémicilié nématomorphe.

4.4.5.1.1.2. Famille des Amphileptidae Bütschli, 1889

Cytostome en fente, corps comprimé latéralement et uniformément cilié.

Famille largement représentée dans nos sables par les genres *Lionotus*, *Hémionotus*, *Hemiphrys*, *Centrophorella* et *Loxophyllum*.

4.4.5.1.1.3. Famille des Loxodidae Bütschli, 1889

Bouche en fente située sur le côté convexe d'un corps comprimé latéralement.

Le genre *Remanella* est fréquent mais très fragile.

4.4.5.1.1.4. Famille des Geleidae Kahl, 1933

Nématomorphe, contractile et fragile.

Largement représentée par le genre *Geleia* et quelquefois par *Corlissia*.

4.4.5.1.1.5. Famille des Chlamydodontidae Stein, 1859

Ciliature somatique ventrale, forme assez rigide avec aplatissement dorso-ventral.

Nous avons observé les genres *Chlamydodon* et *Chilodonella* mais pas le genre *Cryptopharynx* que DRAGESCO (1960), (1963) a pourtant rencontré souvent sur les plages françaises.

4.4.5.1.2. HOLOTRICHES HYMENOSTOMES

4.4.5.1.2.1. Famille des Frontoniidae Kahl, 1926

souvent herbivores, à grande cavité bucale ciliée. Les genres *Frontania* et *Cardiostoma* ont été rencontrés.

4.4.5.1.2.2. Famille des Pleuronematidae Kent, 1880

Grande membrane ondulante. Largement représentée par les genres *Pleuronema* et *Cyclidium*.

4.4.5.1.2.3. Famille des Cohnilembidae Kahl, 1933

Certains auteurs les classent dans les Pleuronematidae auxquels ils ressemblent beaucoup.

Le genre est principalement représenté sur notre littoral par l'espèce microphage *Uronema marinum*. HARWIG (1973) le classe dans la famille des Uronematidae.

4.4.5.1.3. SPIROTRICHES HETEROTRICHES

4.4.5.1.3.1. Famille des Condylostomidae Kahl, 1929

Zone adorale antérieure garnie de fortes membranelles. Bien représentée par le genre *Condylostoma*.

4.4.5.1.4. SPIROTRICHES HYPOTRICHES

4.4.5.1.4.1. Famille des Oxytrichidae Ehrenberg, 1838

Larges zones de cirres couvrant la majorité de la face ventrale.

Plusieurs genres sont représentés, notamment *Urostyla* et *Styloynchia*.

4.4.5.1.4.2. Famille des Euplotidae Ehrenberg, 1838

Cirres ventrales, mais plus restreintes que chez les Oxytrichidae. Péristome à membranelles bien développées.

Cette famille est représentée principalement par le genre *Euplotes*.

4.4.5.2. Description détaillée de 2 espèces bactériophages présentes dans la majorité des échantillons, quel que soit leur niveau de prélèvement.

4.4.5.2.1. *Uronema marinum* Dujardin, 1841

4.4.5.2.1.1. Remarque

Cet Holotrichie Hymenostome a été décrit par KAHL en 1935 et trouvé sur nos plages par CHARDEZ (1972). Nous avons pu le retrouver dans la plupart de nos échantillons, même en zone supralittorale à 2m de profondeur.

Lorsque l'eau interstitielle semble dépourvue de toute faune infusorienne, il suffit de favoriser la croissance des bactéries pour voir apparaître ces *Uronema* en grand nombre.

Ceux-ci proviennent d'un ou de plusieurs individus passés inaperçus ou plus probablement de formes enkystées qui se sont développées rapidement. Nous avons pu observer sur des cultures pures que, si le milieu devient défavorable, l'enkytissement total a lieu en quelques jours.

4.4.5.2.1.2. Comportement et description

Il s'agit d'une forme nageante qui se déplace activement dans l'eau en ingérant les bactéries qu'elle attire au moyen du mouvement de ses membranelles.

Le corps, d'une longueur de 50 μm , est ovale et présente une ciliature uniforme à 5 ou 7 rangées de cinéties (suivant la face considérée), comptant chacune une vingtaine de cils. Un cil postérieur unique est plus long que les autres de 10 à 20 μm .

La vacuole pulsatile, unique, est postérieure.

Une vacuole alimentaire se forme toutes les secon-

des. Elle circule jusque la partie postérieure du corps, revient légèrement vers l'avant puis s'immobilise tandis que son contenu est progressivement digérée.

Le volumineux macronucléus sphérique est mis en évidence par le vert de méthyle et les vacuoles digestives, par le rouge neutre ainsi que par le formazan.

En vue d'une analyse plus fine, nous avons pratiqué la technique d'imprégnation argentique. Ces organismes s'imprègnent difficilement mais, sur une centaine d'individus, nous avons pu en obtenir deux parfaitement contrastés sur lesquels nous pouvions aisément observer les cinéties et les membranelles buccales. Nous en avons représenté un spécimen à la figure 3 (page 100). Les kystes ont un diamètre de 15 à 17 μm .

La conjugaison a pu être observée de nombreuses fois lorsque le milieu de culture devenait déficient.

4.4.5.2.2. *Euplotes raikovi* Agamaliev, 1966

4.4.5.2.2.1. Remarque

Ce Cilié a été découvert par AGAMALIEV (1966) en mer Caspienne. BORROR (1968) en parle dans sa "Systématique des *Euplotes*".

En France, il ne semble pas avoir été rencontré par les protistologues.

Ainsi que nous l'avons déjà signalé, il est très abondant sur notre côte, principalement lorsque le milieu est légèrement saprobe.

Nous devons à l'obligeance de M. TUFFRAU, Maître de recherche au C.N.R.S., d'avoir pu le déterminer.

Ce protistologue est spécialisé dans la systématique des *Euplotes* dont il étudie la structure fine. Cette systématique est basée principalement sur les mailles de l'argyrome (TUFFRAU, 1960).

Nous avons rencontré *Euplotes raikovi* à tous les niveaux de la zone intertidale étudiée. Il se cultive aisément dans un milieu riche en bactéries.

4.4.5.2.2.2. Comportement et description

Ce Cilié peut nager mais généralement il rampe activement sur le fond du récipient ou sur les faces accessibles des grains de sable. Il paraît y "lamper" les bactéries qui s'y trouvent.

Lorsqu'il se pose il redresse ses cirres ventrales qui lui servent d'appui.

De forme ovale, le corps est aplati ventro-dorsalement et a une longueur moyenne de 50 µm. Un large cytostome, étendu ventro-latéralement vers la droite, est garni de 30 à 35 membranelles bien développées. La face dorsale comporte 7 cinéties, implantées chacune d'une dizaine de soies minuscules. L'argyrome présente une structure caractéristique.

La face ventrale comporte 15 ou 16 cirres :

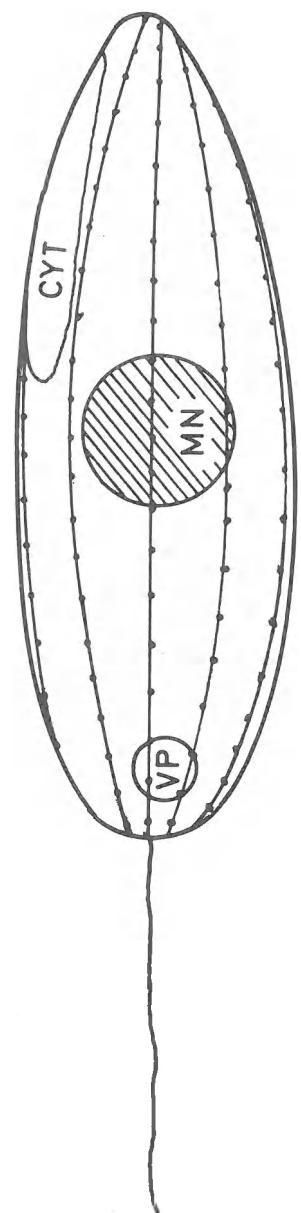
- 7 ou 8 cirres fronto-ventraux,
- 5 cirres transversaux,
- 3 cirres caudaux.

Le macronucleus allongé et en forme d'arc, est mis en évidence par le vert de méthyle.

Les *Euplotes* ne possèdent pas de vacuoles digestives, au sens où on l'entend habituellement, mais

un sac endoplasmique qui se distend en fonction de la quantité de nourriture absorbée. Nous avons pu le mettre en évidence par le rouge neutre. C'est l'imprégnation argentique qui nous a permis de préciser les structures ciliaires. Ce Cilié s'y prête remarquablement bien.

Nous l'avons représenté dans la figure 4 (page 101).



MN : Macronucleus

CYT : Cytophore

VP : Vacuole pulsatile

Fig. 3. - Uronema marinum. Imprégnation argentique. Longueur 50 μ m.

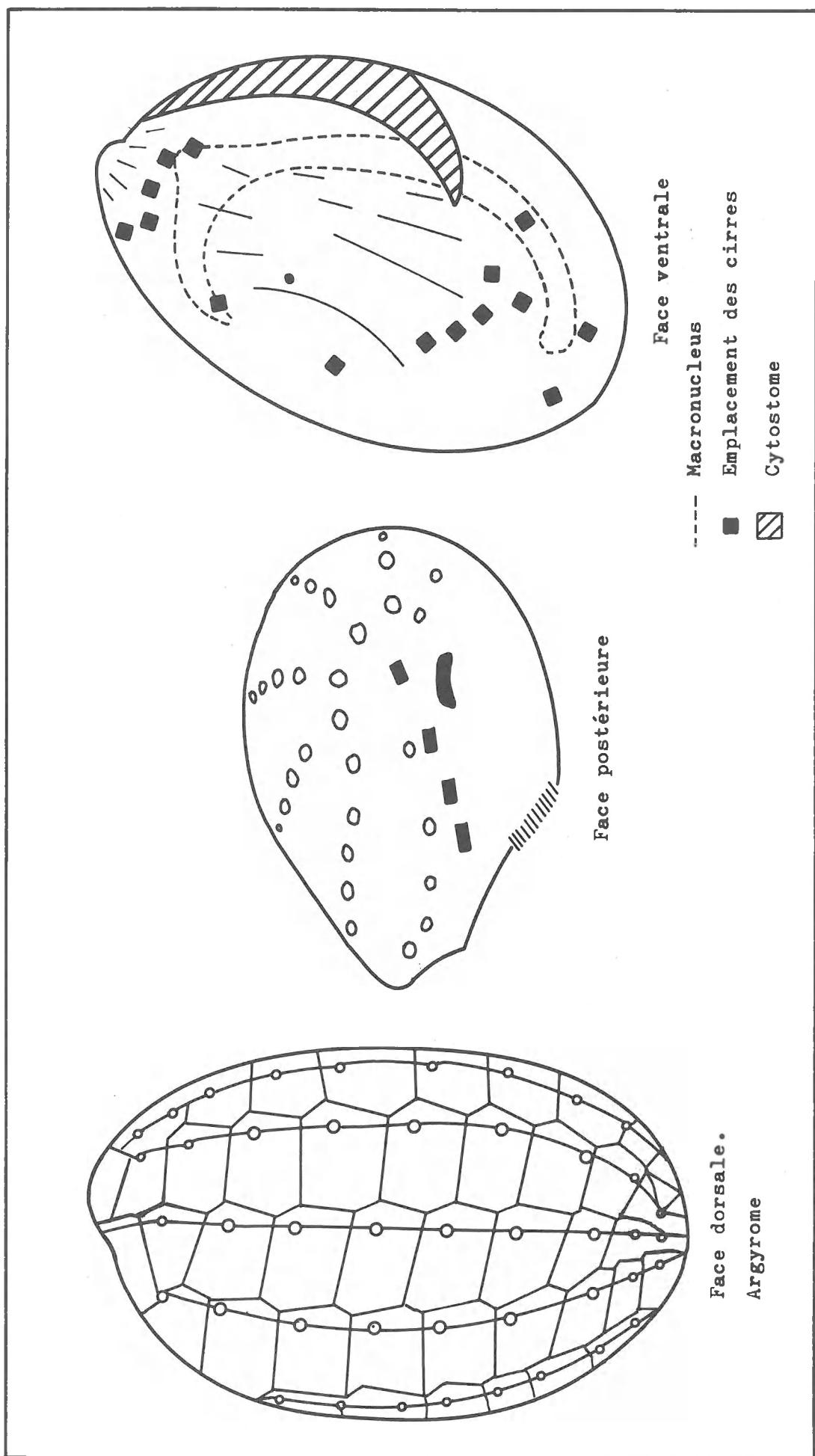


Fig. 4. - *Euplates raikovi*. Imprégnation argentique. Longueur 50 μ m.

4.4.6. Discussion

D'une manière générale nous avons pu observer des représentants de la plupart des familles des Ciliés psammophiles halophiles décrits par DRAGESCO en 1960 et en 1963, dans ses ouvrages sur le recensement des Ciliés mésopsammiques.

Le fait de n'avoir pu observer certaines familles ou certains genres ne constitue pas un critère de leur absence de nos sables littoraux.

Nous avons ensuite décrit 2 Ciliés non repris dans les travaux de DRAGESCO mentionnés ci-dessus.

Ces 2 Ciliés sont très largement représentés et offrent un intérêt écologique évident dans le cadre de notre étude. Il ne s'agit pas d'espèces typiquement microporales mais bien d'espèces euryporales.

Nous n'avons pas observé de variations qualitatives évidentes en fonction des facteurs physico-chimiques (pH, T°, salinité, saison). Il semble admis que les Ciliés y soient peu sensibles, bien que FENCHEL (1971) note une corrélation certaine entre leur distribution verticale et le profil redox.

La faunule interstitielle ciliée diminue quantitativement avec la profondeur tandis que les petits Flagellés y sont plus abondants.

Les formes thigmotactiques peuvent résister à la circulation de l'eau. Il est toutefois probable que d'autres formes présentent un rythme physiologique en rapport avec les marées ainsi que le possèdent d'autres organisme benthiques, végétaux ou animaux. Ce phénomène décrit par FAURE-FREMIET (1950) pour *Chromulina psammobia* mériterait d'être vérifié pour les Ciliés.

Leur abondance à certains endroits nous paraît toutefois liée à une prolifération rapide sous certaines conditions nutritives plutôt qu'à un déplacement actif ou passif.

5. RECENSEMENT DES BACTERIES
AEROBIES HETEROTROPHES
MESOPHILES

5.1. CHOIX DE LA METHODE

5.1.1. CONSIDERATIONS GENERALES	105
5.1.2. CHOIX DE LA METHODE D'IDENTIFICATION	107

5.1.1. Considérations générales

Un problème d'importance se pose dès que l'on se réfère au système de LINNE dont l'unité taxonomique est l'espèce : cette espèce que les biologistes ont maintenant coutume de considérer comme "organismes potentiellement inter-reproductibles" (quoiqu'ils les classent suivant des critères biologiques plus aisément observables) et que les écologistes considèrent du point de vue de leur "fonction" dans la communauté.

Lorsqu'il s'agit des bactéries, la reproduction intervient peu, les critères biologiques usuels ne peuvent être appliqués et les fossiles qui permettraient de reconstituer les divers phylums font défaut.

Force nous est de créer un concept d'espèce différent de l'espèce biologique dans son sens habituel.

Théoriquement il s'agit de cellules individuelles identiques, mais en fait il existe rarement pareille identité cellulaire. Les mutants sont abondants par suite du grand nombre d'individus en cause et, peut être aussi, de la facilité qu'ils ont à modifier leur génotype. En outre, les caractères bactériens sont inconstants et peuvent être masqués durant plusieurs générations pour réapparaître subitement sous l'effet d'une cause inconnue.

Même le concept de "genre" reste souvent vague et d'aucuns préfèrent utiliser le terme de "groupe" afin d'éviter les restrictions imposées par les règles de la nomenclature.

Il ressort de ces diverses considérations que le spécimen-type d'une bactérie a beaucoup moins de signification qu'un spécimen zoologique mais, d'autre part, sa possibilité de se perpétuer et d'être stockée en flacon de petite dimension permet la conservation pratiquement indéfinie d'une souche vivante, procurant ainsi un système de référence accessible à tout chercheur qui le souhaite.

Ainsi donc, parmi les nombreuses propriétés envisagées dans l'établissement du critère de spécificité, une première approche taxonomique envisage la morphologie, la couleur, le mode de coloration, le type de motilité, la forme de l'éventuelle spore, le type de respiration aérobie ou anaérobie, fermentatif ou oxydatif, le métabolisme élémentaire distinguant les autotrophes des hétérotrophes sur la base du milieu de culture ou du lieu de prélèvement, la pathogénicité potentielle, les similitudes antigéniques etc...

Une recherche plus élaborée se poursuit par l'examen de mécanismes plus intimes dont l'un des plus largement utilisés est l'analyse du système enzymatique.

Les bactéries, en effet, en sont fort bien pourvues, que ces enzymes soient solubles ou particulaires, intra ou extra-cellulaires, constitutifs ou inductibles. Leur diversité est si grande (plusieurs milliers) qu'elle a permis aux bactériologues d'élaborer une taxonomie basée sur leur observation.

Ces dernières années cependant, la taxonomie classique a tendance à être remplacée par de nouveaux système de classification. L'usage des ordinateurs a favorisé la taxonomie numérique, système basé sur la méthode adansonienne d'analyse d'un grand nombre de caractères effectuée sur un grand nombre de spécimens.

Par la quantité, on atténue l'incertitude due à l'instabilité des caractères et à la subjectivité inhérente au choix de ceux-ci. Cette méthode a ses inconvénients. Ceux-ci ont été décrits notamment par PRATT (1972) et par BRISOU et al (1966).

La taxonomie génétique quant à elle, est basée sur la similitude du matériel génétique entre mêmes espèces ou plus exactement sur le pourcentage relatif des paires de bases complémentaires que sont la guanine et la cytosine (% G et C). Le D.N.A. est dénaturé thermiquement et analysé au spectrophotomètre. Ce système est notamment étudié en Belgique par

le Professeur DE LEY de l'université de Gand.

Citons encore les méthodes d'analyses chromatographiques et spectroscopiques.

Selon GINELL et FEUCHTBAMU (1972), leur manque de succès en dépit de leur sensibilité peut être attribué au fait qu'au niveau moléculaire, les bactéries sont plus ou moins semblables entre elles. L'analyse par spectrométrie fluorescente, par contre, permet de distinguer les différents types de liaisons parmi les différentes formes morphologiques d'une même protéine.

5.1.2. Choix de la méthode d'identification

Notre choix s'est porté sur la taxonomie classique basée sur la détermination enzymatique. Ceci, pour diverses raisons dont la disponibilité de l'équipement du laboratoire, l'intérêt que présente en soi l'enzymologie bactérienne et son action sur le biotope, le moindre risque d'erreur en utilisant une méthode ayant fait ses preuves et, surtout, le fait que les nouveaux systèmes nécessitent une modification de la classification existante. Ces modifications ont vraisemblablement leur raison d'être mais notre but n'est pas de réviser la systématique bactérienne.

5.2. PRINCIPES DE L' ANALYSE ENZYMATIQUE

5.2.1. REMARQUE	109
5.2.2. CULTURE	109
5.2.3. ISOLEMENT	110
5.2.4. TESTS ELEMENTAIRES	110
5.2.5. ANALYSES ENZYMATIQUES	111

5.2.1. Remarque

Les bactéries sont récoltées selon les modes de prélèvement décrits au parag. 3.4. puis cultivées et isolées de la manière classique jusqu'à l'obtention d'une souche pure. Celle-ci est examinée au point de vue morphologique puis soumise aux épreuves enzymatiques qui permettront de la classer.

5.2.2. Culture

Des fractions décimales de l'eau à analyser sont étalées sur un milieu gélosé nutritif préparé à l'eau déminéralisée et sur une autre gélose préparée à l'eau interstitielle. La salinité de cette dernière se rapproche de celle de l'eau de mer et cependant, des essais parallèles sur gélose à l'eau de mer ont donné des résultats moins satisfaisants.

Il est vraisemblable que l'eau interstitielle contient des éléments favorables à la croissance des bactéries autochtones. La richesse des eaux psammiques lacustres a déjà été remarquée par STANGENBERG (1934) mais, comme le note très justement DELAMARE-DEBOUTEVILLE (1960), nous manquons de données fondamentales sur les eaux interstitielles littorales marines.

Nous avons abordé ce sujet de manière plus détaillée dans le chapitre consacré à la salinité (Réf. 3.5.4.1.).

Les boites de Petri contenant la gélose ainsi ensemencée sont incubées à 20°C durant 1 à 3 semaines.

5.2.3. Isolement

Après développement, les colonies nettement délimitées sont dénombrées et soumises à de nouveaux isollements. De ceux-ci on reprend, après incubation, la colonie la plus représentative des points de vue isolement et netteté. On l'ensemence sur 4 tubes contenant :

- 1) une gélose à l'eau douce qui sera incubée à 20°
- 2) " " " " " " " " 37°
- 3) une gélose à l'eau interstitielle qui sera incubée à 20°
- 4) " " " " " " " " 37°

On prend note des résultats de la croissance des 4 cultures; celle d'entre elles qui s'est le mieux développée, est conservée comme souche d'origine pour les expérimentations ultérieures. Celles-ci seront effectuées dans les mêmes conditions de T° et de salinité.

5.2.4. Tests élémentaires

Les premiers tests consistent en des procédés classiques de détermination de certains caractères, à savoir :

- la morphologie du germe,
- la coloration de Gram,
- la pigmentation,
- le type de sporulation éventuelle,
- la mobilité etc...

La souche est ensuite soumise aux analyses enzymatiques.

5.2.5. Analyses enzymatiques

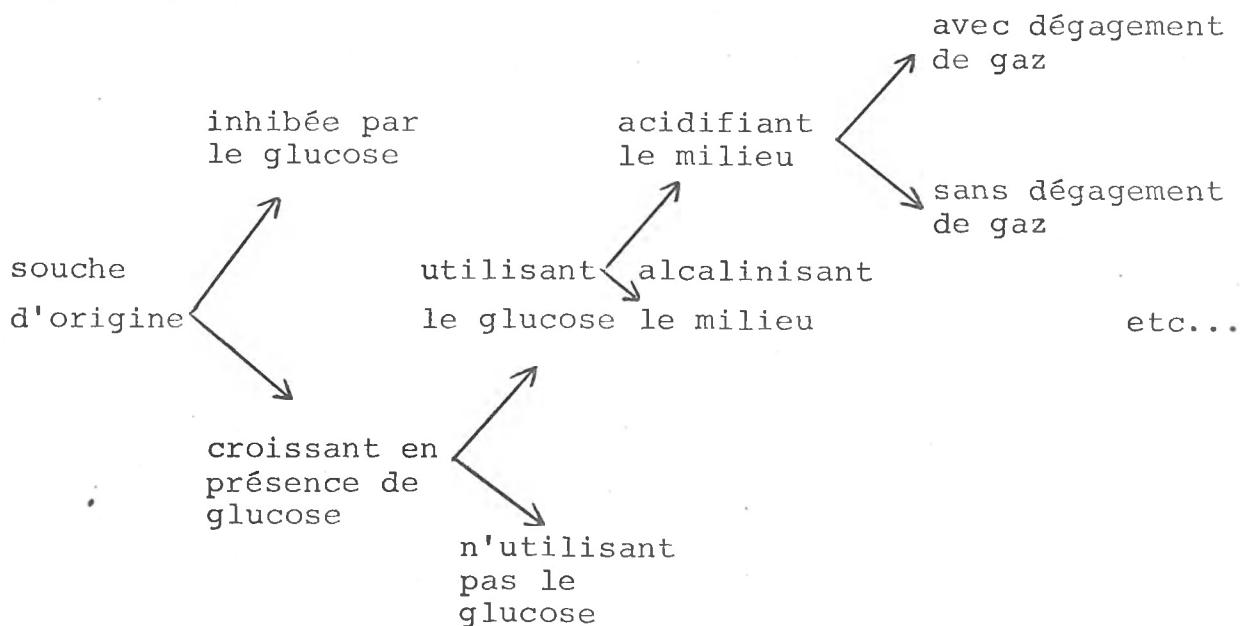
L'essentiel de ces analyses est tiré de l'ouvrage de BRISOU intitulé "Techniques d'enzymologie bactérienne" (1971).

L'auteur y rassemble tout ce qui a été expérimenté sur le sujet et y ajoute les fruits de son expérience personnelle.

Le principe en est le suivant : une bactérie est cultivée sur un substrat choisi comme seule source énergétique. Si celle-ci accepte d'y croître, elle peut modifier ce substrat d'une manière ou d'une autre, par exemple en l'acidifiant ou en l'alcalinisant. Ceci se vérifie aisément par l'addition d'un indicateur de pH. Elle peut également dégager du gaz, coaguler le milieu, sédimenter ou, au contraire, croître en surface etc...

Certaines épreuves biochimiques permettront éventuellement une identification des produits élaborés.

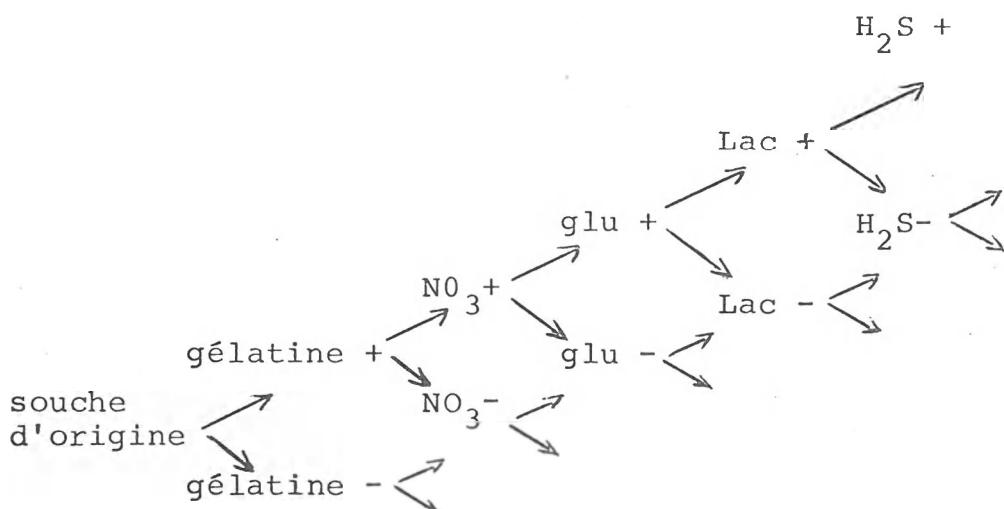
Ce processus d'analyse pourrait être schématisé de la manière suivante, en prenant pour exemple l'utilisation du glucose :



Ces tests sur divers substrats seront poursuivis jusqu'au moment où ils permettront l'identification du germe. Ce peut être très rapide pour un germe typique, aisément identifiable par des procédés classiques. C'est souvent le cas des germes pathogènes pour lesquels les processus d'analyse ont été perfectionnés. Ce n'est généralement pas le cas pour les germes saprophytes, souvent ubiquistes qui nécessitent quelquefois plusieurs dizaines d'épreuves avant d'aboutir à un résultat.

Nous donnons ci-après un exemple de fiche d'identification mentionnant les épreuves les plus souvent utilisées.

L'identification de l'organisme s'opère en associant les tests par une sorte de procédé dichotomique qui se poursuit jusqu'à l'obtention d'un résultat. On peut le schématiser de la manière suivante :



... et ainsi de suite.

FICHE D'IDENTIFICATION

Nom:

Fiche n° :

Morphologie:

Sporulation:

Gram:

Mobilité:

Chromogénèse:

Oxydase:

Catalase:

Aérobiose:

Anaérobiose:

Oxydatif:

Fermentatif:

Halophile:

Dulçaquicole:

Acidifications

Arabinose

Ac. organiques

Xylose

Citrate

Rhamnose

Pyruvate

Galactose

Furamate

Lévulose

Malate

Mannose

Lactate

Maltose

Alginate

Raffinose

Mucate

Saccharose

Tartrate

Mélibiose

Propionate

Inuline

Itaconate

Amidon

Alc

Aci

Gélatine:

Salicine

NO₂:

Esculine

Glucose:

Gaz:

Amygdaline

Lactose:

Gluconate

Pr. réducteurs

ONPG

Désaminases

VP

TDAM

RM

APP

Alcools

Décarboxylases

Adonitol

Methionine

Dulcitol

Alanine

Glycérol

Lysine

Sorbitol

Ornithine

Mannitol

Arginine

Inositol

Tyrosine

Ac-hippurique

Glycocolle

Hydrolase

Uréase

Lipase

Estérase

Phosphatase

Gélatine:

NO₂:

Glucose:

Gaz:

Lactose:

Indole:

H₂S:

Groupe:

Lyses

Cellulolyse

Pectinolyse

Chitinolyse

Caséolyse

Hémolyse

Glucosidase

Coagulase

Résistance aux antibiotiques

Techniques immunologiques

Lait

Epreuves accessoires

Nombre de souches étudiées

Provenance

5.3. TECHNIQUES DE L'ANALYSE ENZYMATIQUE

5.3.1. Proteinase	115
5.3.2. Nitrate-réductase	116
5.3.3. Glucose-oxydase	116
5.3.4. Lactose-oxydase	118
5.3.5. β -galactosidase	118
5.3.6. Glucides et glucosides divers	119
5.3.7. Indole	119
5.3.8. H ₂ S	120
5.3.9. Oxydase	121
5.3.10. Cytochrome-oxydase	121
5.3.11. Catalase	121
5.3.12. Peroxydase	122
5.3.13. Gluconate	122
5.3.14. VP-RM	124
5.3.15. Alcools	124
5.3.16. Acides organiques	125
5.3.17. Amino-acides décarboxylases	125
5.3.18. Désamination oxydative	126
5.3.19. Arginine dihydrolase	127
5.3.20. Uréase	127
5.3.21. Lipase	128
5.3.22. Estérase	128
5.3.23. Phosphatase	129
5.3.24. Cellulolyse	130
5.3.25. Pectinase	131
5.3.26. Chitinolyse	131
5.3.27. Caséolyse	132
5.3.28. Hémolyse	133
5.3.29. Glucosidase	133
5.3.30. Coagulase	133
5.3.31. Résistance aux antibiotiques	134
5.3.32. Techniques immunologiques	134
5.3.33. Lait	134
5.3.34. Remarque	135

5.3. Techniques de l'analyse enzymatique

Si pour certains cas de mise en évidence d'enzymes, nous avons préalablement utilisé plusieurs méthodes, afin de tester celle qui nous convenait le mieux, nous nous bornons à détailler ici celle qui nous a servi d'analyse de routine.

Lorsqu'une souche se révélait particulièrement difficile à cultiver ou refusait d'utiliser un substrat sous la forme qui lui était présentée, nous expérimentions d'autres méthodes, ou encore, nous tentions de la cultiver à une température ou à un taux de salinité différent, nous lui fournissons de l'extrait de levure ou d'autres nutriments et ainsi de suite. Il sera fait mention de ces particularités dans les résultats spécifiques (Réf. Par. 5.5.)

Il va de soi que des tubes témoins nous permettaient de vérifier la validité d'un résultat, et que les récipients et milieux de culture ou réactifs utilisés étaient préalablement stérilisés.

5.3.1. Protéinase

Le critère de présence d'une protéinase bactérienne a été limité ici à la détection de l'enzyme qui hydrolyse ce produit de dégradation du collagène qu'est la gélatine. La coutume le veut ainsi, bien que certaines bactéries élaborent de la collagénase ou encore d'autres types de protéinases.

Le milieu peptoné habituel est solidifié par l'adjonction de 15 % de gélatine en poudre, le tout est coulé en tubes à raison de 5 ml par tube.

Après ensemencement et incubation, l'hydrolyse de la gélatine s'observe par une liquéfaction du milieu.

5.3.2. Nitrate-réductase

Quoiqu'il existe plusieurs types de nitrate - réductases et que les produits élaborés puissent être nombreux (N_2O , NO , NH_2 , NH_3 etc...) les bactériologistes se bornent généralement à vérifier la présence ou l'absence de nitrites dans le milieu de culture; cette règle est appliquée dans les classifications actuellement en usage.

Cependant, sur nos fiches d'identification, nous indiquons la présence éventuelle d'azote moléculaire dans les rares cas où la réduction s'est poursuivie jusqu'à ce stade qui se nomme alors dénitritification.

Le bouillon peptoné est enrichi au moyen de 0,1 % de nitrate de potassium ou de sodium.

Après ensemencement, la culture est périodiquement vérifiée afin d'y déceler l'apparition éventuelle de nitrites.

Ceux-ci sont mis en évidence par la couleur rose qui apparaît lors de l'ajonction de 1 goutte de réactif de GRIESS dans un aliquot du milieu de culture.

En cas de réaction négative, on peut vérifier si les nitrates sont toujours présents ou si le stade nitrite a été dépassé. Pour ce faire, il suffit d'introduire un peu de poudre de zinc dans le tube et de le chauffer. Le nitrate éventuel est alors réduit en nitrite et la coloration rose apparaît.

5.3.3. Glucose-oxydase

On sait que le glucose peut s'oxyder en acide, se dégrader complètement en CO_2 par la voie du pentose-phosphate, être source de pentoses pour la biosynthèse des nucléotides, servir à former d'autres hexoses ou même être formé dans l'organisme par gluconéogénèse ou glycogénolyse.

En bactériologie, le glucose a été unanimement choisi comme sucre déterminant la voie d'oxydation utilisée, soit fermentative, soit oxydative.

En anaérobiose (glycolyse) en effet, à défaut d'oxygène, l'acide pyruvique peut servir d'accepteur d' e^- et former de l'acide lactique. Il peut produire également, en proportions moindres, de l'acide acétique, butyrique, propionique etc... éventuellement du CO_2 et de l'éthanol. Ce processus diffère des respirations anaérobies où l'accepteur est exogène.

En aérobiose, l'oxydation du glucose en C_6 ou C_1 conduit à une fonction acide tel l'acide glucuronique, gluconique, ceto-gluconique ou P-gluconique (Réf. Par. 5.3.1.3.).

Lors d'un métabolisme plus poussé, l'acide pyruvique peut s'accumuler dans le milieu, de même que d'autres produits du métabolisme intermédiaire tel l'acide fumarique, citrique etc...

Dans la pratique, on détecte l'acidité comme témoin d'oxydation ou de fermentation du glucose, et le CO_2 comme celui d'une oxydation ou d'une fermentation plus complète.

Un tube contenant 3 ml de milieu faiblement peptoné (1 %) afin d'éviter l'alcalinisation due à la protéolyse, est additionné de glucose 0,1 M et de rouge phénol en quantité suffisante pour apprécier la différence de pH.

Un second tube semblable est recouvert d'une couche de paraffine liquide afin de favoriser les conditions anaérobies.

La croissance, la production de gaz et l'acidification sont vérifiés dans chacun d'eux.

5.3.4. Lactose-oxydase

Le test du lactose a toujours été largement utilisé par les bactériologistes hygiénistes lors des analyses sanitaires. Ce test présente moins d'intérêt en bactériologie marine; la coutume veut cependant qu'on continue à l'inclure dans les recherches.

Certaines bactéries peuvent acidifier la fonction alcool du lactose, en aérobiose, sans rupture de la molécule.

On obtient ainsi l'acide lactobionique qui se détecte par modification du pH de la culture. Ces bactéries ne possèdent pas nécessairement une β -galactosidase.

La technologie est semblable à celle utilisée pour le glucose.

5.3.5. β -galactosidase

Ainsi que nous l'avons vu dans le paragraphe ci-dessus, l'acidification du lactose ne nécessite pas une β -galactosidase.

Afin de différencier ces 2 modes d'utilisation du lactose on présente à la bactérie un substrat à base de galactoside synthétique (l'ONPG ou ortho-nitro-phényl-galactoside).

Si elle possède une galactosidase, elle libérera l'ortho-nitrophénol de couleur jaune.

Une dose de culture bactérienne fraîche est émulsionnée dans un tube à essai contenant 1 ml d'une solution tampon. On y ajoute une pastille de papier imprégnée d'ONPG à 5 %. La réaction positive se traduit par une coloration jaune endéans les 30 minutes.

5.3.6. Glucides et glucosides divers

En plus du glucose et du lactose, de nombreux autres glucides intervenant dans la détermination, peuvent être soumis à l'attaque bactérienne.

Quinze d'entre eux sont repris sur notre fiche d'identification. Cette liste n'est pas limitative.

La technologie est semblable à celle du glucose; on y vérifie l'acidification sauf dans le cas de l'esculine où on vérifie la réduction.

Le mannose mérite une mention spéciale car il est assez largement utilisé par les bactéries marines. Epimère du glucose et constituant fréquent des polysaccharides, il se rencontre dans le mannoside du glycérol (hétéroside) qui paraît être une forme de réserve glucidique des algues.

L'amidon est soumis à une technique différente.

On dissous 1 % d'amidon soluble dans un tampon phosphate.

On l'incorpore dans un milieu gélosé coulé en boites de Pétri etensemencé en stries. Après incubation, on pulvérise une solution de lugol à la surface du milieu.

Une coloration violette indique la présence d'amidon intact, la molécule d'iode s'installant entre les espaces vides formés par les unités d'amylose. Un halo clair autour des colonies indique au contraire la dégradation de l'amidon.

5.3.7. Indole

L'indole ou benzopyrole résulte de la dégradation des matières albuminoïdes et notamment du tryptophane. Sa détection est pratiquée en bactériologie.

La souche bactérienne est cultivée dans une eau peptonée. On recherche ensuite la présence de l'indole par addition de quelques gouttes d'une solution de p-diméthylaminobenzaldéhyde préparé de la manière suivante :

5 g de p-diméthylaminobenzaldéhyde sont dissous dans 75 ml d'alcool isoamylique très pur. On y ajoute ensuite 75 ml d'HCl N.

La réaction positive se traduit par une coloration rose vif.

5.3.8. H₂S

En respiration anaérobie les sulfates (éventuellement les sulfites et les hyposulfites) peuvent servir d'accepteurs finaux d'e⁻. Nous avons mis cette capacité à profit pour cultiver des bactéries sulfureuses photosynthétiques (Réf. Par. 6.1.) car leur croissance est dépendante des bactéries sulfato-réductrices. Ces dernières jouent ainsi un rôle important dans la formation des dépôts de soufre et dans le cycle du fer. Elles transforment la vase grise en vase noire, en présence de l'eau de mer.

Les bactéries aérobies dégagent éventuellement de l'hydrogène sulfuré lors de la décomposition des matières organiques, notamment du peptone contenu dans le milieu de culture.

Le procédé le plus simple consiste à imprégner des bandelettes de papier d'une solution saturée d'acétate de plomb II, très soluble dans l'eau. Ces bandelettes sont stérilisées ensuite, et l'une d'entre elles est introduite dans la partie supérieure du tube de culture et retenue par le bouchon. Le dégagement d'H₂S se manifeste par la formation de sulfure de plomb qui noircit le papier.

5.3.9. Oxydase

Les oxydases sont des enzymes capables d'activer l'oxygène soit en réagissant directement avec lui comme le fait la cytochrome-oxydase soit en transférant des électrons sur l'oxygène ou sur un autre accepteur (donc en déshydrogénant le substrat).

On les dénomme en fonction du substrat qu'elles transforment. La bactériologie classique se base sur la recherche de la phénylène-diamine-oxydase. Ce test est très utile car il permet de différencier rapidement certains groupes bactériens par ailleurs fort semblables.

On imprègne un papier filtre avec une solution fraîche de diméthyle-para-phénylène-diamine à 1 %. On y dépose directement un peu de culture bactérienne. Une coloration rose vif apparaît instantanément en présence de l'enzyme.

5.3.10. Cytochrome-oxydase

Ce test peut s'enchaîner avec le précédent.

En ajoutant une goutte d' α -naphtol en solution alcoolique à 1 % sur la tache résultant de la détection de la phénylène-diamine-oxydase, la coloration rose vire au bleu en cas de réaction positive.

5.3.11. Catalase

Les catalases sont des enzymes qui décomposent l'eau oxygénée en O_2 et H_2O . Elles servent d'enzymes de sécurité, associées aux oxydases. Elles agissent également comme agents antimutagènes chaque fois que les peroxydes agissent comme mutagènes (STANIER et al, 1966).

Elles sont absentes chez les bactéries anaérobies mais également chez les bactéries lactiques qui sont pratiquement les seuls organismes capables de se développer en présence d'oxygène libre et qui ne contiennent pas de catalase (à part, semble-t-il, *Acetobacter peroxydans* et *Shigella dysenteriae*)

On émulsionne un peu de culture bactérienne dans une goutte d'eau oxygénée à 12 volumes, déposée sur une lame.

La présence de catalase entraîne l'apparition de petites bulles d'oxygène dans l'émulsion.

5.3.12. Peroxydase

Les peroxydases oxydent les substrats en utilisant H_2O_2 .

Nous n'avons recherché ces enzymes qu'exceptionnellement mais le test est assez courant en bactériologie alimentaire. Il permet par exemple de vérifier la bonne pasteurisation du lait : la peroxydase contenue dans celui-ci devant être détruite par la chaleur.

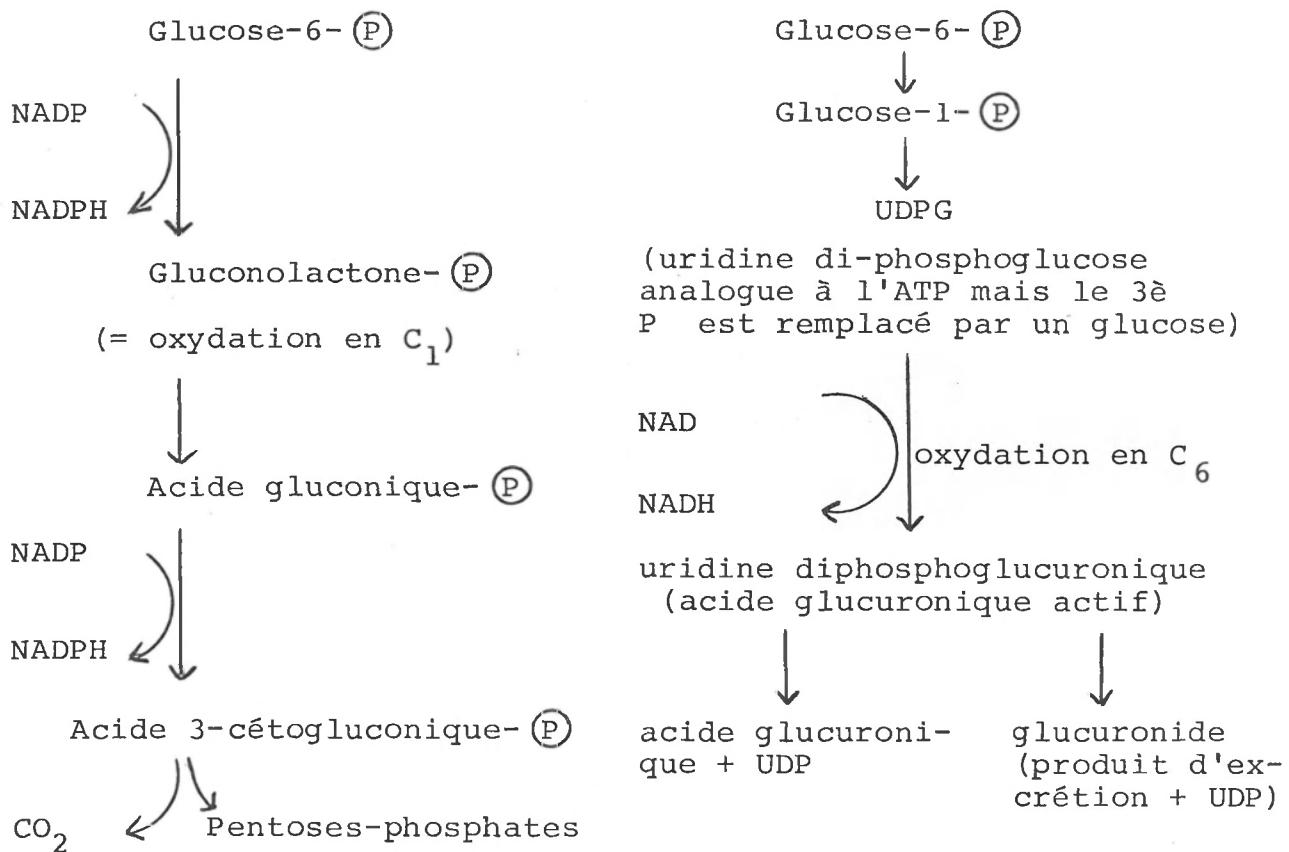
En présence d'un donneur tel le paraphénylène-diamine et d' H_2O_2 , le lait devient bleu s'il contient encore de la peroxydase.



5.3.13. Gluconate

Nous avons remarqué dans le paragraphe 5.3.3. que l'oxydation de sucre en C_6 peut conduire à la formation d'un acide glucuronique tandis que l'oxydation ménagée en C_1 peut conduire à une acide gluconique.

Ces mécanismes peuvent être représentés de la manière suivante :
(Karlson 1964) :



Ces mécanismes ont été approfondis par DENIS (1966) et par DENIS et BRISOU (1967). Ceux-ci ont remarqué qu'au départ du gluconate, certains micro-organismes peuvent élaborer des produits réducteurs.

Afin de ne pas interférer avec le métabolisme glucidique, on leur fournit le gluconate comme seul substrat et on vérifie l'apparition de l'acide α -cétogluconique, lui même scindé en acide pyruvique et en glycéraldéhyde par après.

Le germe est ensemencé dans un milieu contenant 1 % de gluconate de Na. On recherche ensuite la présence de produits réducteurs au moyen du réactif de Fehling.

5.3.14. VP-RM

La réaction de Voges-Proskauer et le test au rouge de méthyl sont utilisés fréquemment dans la recherche des bactéries coliformes.

GESLIN (1975) les a inclus dans une étude récente sur les *Bacillus*. Ce sont des tests très simples et quelquefois fort utiles pour les déterminations.

Le rouge de méthyle en solution alcoolique à 0,5 % (alcool 60 %) est déposé dans le tube de culture à raison d'une goutte par tube. La réaction positive se traduit par une coloration rouge.

La technique de Voges-Proskauer consiste à préparer

- a) une solution d' α -naphtol à 6 % dans l'alcool à 60°,
- b) une solution de KOH à 40 %.

A 1 ml de culture, on ajoute 0,5 ml de "a" et 0,5 ml de "b". On agite et on note le résultat après 15 minutes. Si la réaction est positive, elle donne une coloration rouge, progressive.

5.3.15. Alcools

La technique employée est la même que pour les sucres (Réf. Par. 6.3.6.). La fonction alcool pourra être oxydée en acide et un indicateur de pH traduira cette modification du milieu. Les substrats que nous utilisons couramment sont l'adonitol, le dulcitol, le glycérol, le sorbitol, le mannitol, et l'inositol. Ces pentols et hexols aliphatiques (et l'inositol qui est un polyol hexavalent alicyclique) sont généralement extraits de végétaux ou obtenus par synthèse.

Dans la pratique courante, on utilise un milieu peptoné dans lequel on place une pastille imbibée de l'alcool choisi, donnant une concentration finale de 2 %.

On vérifie ensuite l'acidification.

5.3.16. Acides organiques

L'acide citrique fut un des premiers acides à être couramment utilisé dans les épreuves bactériologiques. Par après, les tests ont été étendus aux autres acides intervenant dans le cycle de Krebs ou dérivant de celui-ci. Les bactéries peuvent les utiliser en les transformant en de nombreux dérivés. Elles peuvent par exemple alcaliniser le milieu par suite d'une décarboxylation oxydative, ou l'acidifier, ou le fermenter.

On ajoute, au milieu peptoné gélosé, le sel sodique de l'acide. Un indicateur de pH permet de vérifier le sens de la transformation.

5.3.17. Amino-acides décarboxylases

On sait que les acides aminés sont dégradés suivant plusieurs voies réactionnelles, à savoir :

- l'oxydation, aboutissant au ceto-acide correspondant,
- la transformation de la chaîne latérale,
- la décarboxylation,
- la transamination où un acide peut recevoir le radical aminé d'un amino-acide, la désamination, conduisant à l'acide correspondant avec libération de NH_3 ; etc.

La décarboxylation, catalysée par le pyridoxal-phosphate aboutit au CO_2 et à l'amine primaire.

Nous effectuons la recherche des décarboxylases sur la méthionine, lalanine, la lysine, l'ornithine, larginine, la tyrosine

et le glycocolle, mais, dans la majorité des cas, nous n'avons employé que la lysine dont le produit de décarboxylation est la cadavérine [$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}$] et qui est utilisée par les bactéries de la putréfaction. En présence d'air, la cadavérine est oxydée avec libération d'ammoniac.

Le milieu de culture se prépare de la façon suivante :

Pour 1000 ml d'eau : peptone 5 g
 extrait de levure 3 g
 L. lysine 5 g
 bromocrésol pourpre 0,02 g

On ajuste le pH à 5,5.

On ajoute une suspension épaisse de bactéries à 0,5 ml du milieu de Falkow. Un tube témoin permet de vérifier si l'alcalinisation observée n'est pas spontanée.

5.3.18 Désamination oxydative

Il est d'usage de rechercher la phénylalanine désaminase (A P P) et la tryptophane désaminase (TDAM), c'est-à-dire, la désamination de deux acides aminés dits aromatiques.

On aboutit respectivement à l'acide phényl-pyruvique et indolacétique, avec libération de NH_3 . On appelle ces enzymes des amino-acides oxydases car elles transportent l'hydrogène sur l'oxygène moléculaire $\Rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$.

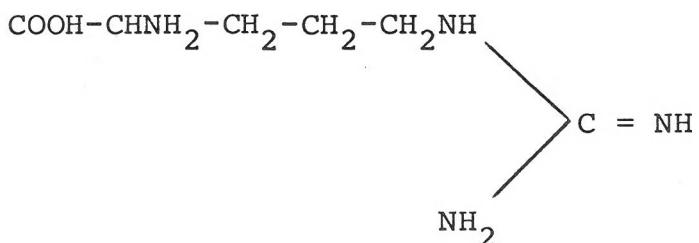
On distribue dans le tube 0,5 ml de solution tampon et 0,5 ml d'acide aminé en solution à 0,5 %. On y ajoute une suspension microbienne.

Afin de révéler les céto-acides formés, on ajoute quelques gouttes de perchlorure de fer officinal dilué au tiers.

Une coloration brun-rouge pour TDAM et vert-olive pour APP indiquent une réaction positive.

5.3.19. Arginine di-hydrolase

Un autre type de désamination se produit sous l'action d'une hydrolase. Cette activité se nomme désamination réductrice et conduit également à un acide avec libération de NH₃. L'hydrogène est indispensable à cette réaction. Cependant l'arginine di-hydrolase mentionnée ici est en fait une immino-hydrolase, en ce sens que l'arginine se comporte comme un mono-acide di-aminé et qu'elle présente un groupement guanidique monobasique :



L'hydrolyse de ce groupement libérera du CO₂ et du NH₃ après passage par les stades de citrulline et d'ornithine.

5.3.20. Uréase

Si, chez les organismes inférieurs, l'ammoniac peut-être excréte directement, il est par contre transformé en urée chez les organismes supérieurs (ou en acide urique chez les reptiles et les poissons).

L'urée peut ensuite être hydrolysée en ammoniac et en CO₂ par de nombreuses bactéries qui, de ce fait, peuvent tolérer un fort degré d'alcalinité. Elles utilisent cet ammoniac pour leur propre croissance.

On introduit dans le tube 0,5 ml d'une solution d'urée à 2 % et du bleu de bromothymol. On ajuste à pH 7 et

on ajoute un peu de culture bactérienne. La réaction positive se traduit par l'alcalinisation du milieu.

5.3.21. Lipase

La lipase est l'enzyme agissant sur les triglycérides. Elle n'est efficace que sur les substrats en émulsion. De même que dans le tractus intestinal les graisses sont émulsifiées par les sels biliaires avant d'être attaquées par la lipase pancréatique, ainsi dans les milieux de culture, les substrats sont émulsionnés par ultra-sons avant d'être soumis à la lipase bactérienne.

Celle-ci agit en libérant un monoglycéride et un diglycéride qui à leur tour donnent des acides gras libres.

Le substrat utilisé habituellement est le tributyrate de glycérol qui libère des acides butyriques, suivant le même processus que dans le rancissement du beurre.

Le tributyrate de glycérol est dissous dans le propylène glycol. On ajoute quelques gouttes de bleu Evans en solution aqueuse, ensuite le volume d'eau distillée requis pour obtenir une concentration finale dans la gélose de 0,1 M. On ajuste à pH 7,3 et on soumet à l'action des ultra-sons.

On incorpore l'ultrasonnat à 10 ml de gélose nutritive.

On ensemence cette gélose en surface sous forme de stries. L'hydrolyse se traduit par une clarification autour des stries.

5.3.22. Esterase

Ainsi que le note BRISOU (1971) dans son manuel d'enzymologie, beaucoup de microbiologistes confondent les tweenesterases et

les lipases. Or selon la Commission internationale de Nomenclature des enzymes, la lipase est une esterase spécialisée qui a pour substrat les triglycérides dont nous avons discuté dans le paragraphe précédent.

Le terme d'esterase est appliqué à l'hydrolyse des esters autres que les triglycérides.

L'ester soluble le plus utilisé en bactériologie est le tween, ester de sorbitol et d'acides gras.

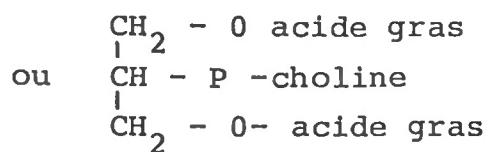
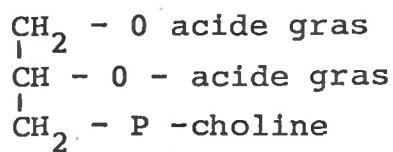
On introduit, dans la boîte de Petri, 2 ml d'une solution de tween à 1 % et 0,5 ml d'une solution de chlorure de calcium à 1 %. Sur ce mélange on coule rapidement 5 ml de gélose nutritive et on homogénise.

Les bactéries sont alors ensemencées en stries sur ces géloses au tween. L'hydrolyse du tween se marque par une opacification du milieu due à la précipitation du sel de calcium qui se combine avec les acides libérés.

5.3.23. Phosphatase

Les phosphatases sont divisées en transférases et hydrolases. Parmi ces dernières, on distingue la phospho-monoesterase que l'on nomme souvent phosphatase acide quand le pH optimum voisine 5 et phosphatase alcaline quand il voisine 7-8. Le substrat est un sucre phosphorylé ou encore un nucléotide libre ; dans ce dernier cas, on parle de nucléotidase.

On distingue d'autre part les phospho-diesterases qui scindent divers dérivés de l'acide phosphorique, comme par exemple les polynucléotides ou encore un phospholipide tel la lécithine.



ou

C'est précisément la lécithine que nous utilisons généralement comme substrat.

1 ml de lécithine pure du commerce, en émulsion à 3 %, est additionnée à 10 ml d'eau peptonée à 1 %.

Le pH est ajusté à 7,2 et quelques gouttes de bleu de bromothymol servent d'indicateur. Le tube estensemencé et l'activité phospholipasique éventuelle provoquera une nette acidification du milieu.

5.3.24. Cellulolyse

La cellulose est quantitativement le composé organique le plus important du monde vivant. Généralement d'origine végétale, on la retrouve exceptionnellement chez certains animaux comme les Tuniciers. Il n'est donc pas étonnant que la cellulase soit largement répandue dans le monde microbien et notamment chez les bactéries symbiontes des herbivores dont le rumen ne contient pas moins de 10^{10} bactéries/ml. On se souvient que le rumen lui même ne produit aucun enzyme digestif. (Il se peut cependant que l'attaque primaire de la cellulose soit effectuée par les protozoaires).

Les bactéries saprophytes ont à leur disposition la cellulose enfouie dans le sol à la mort des végétaux.

La cellulose en poudre est incorporée à une gélose nutritive à raison de 25 g par litre. Ces géloses coulées en boites de Pétri sontensemencées en stries. La réaction positive se traduit par une clarification du milieu qui se produit très lentement.

5.3.25. La Pectinase

La pectine est un autre polysaccharide végétal à structure plus complexe que la cellulose.

Son hydrolyse donne de l'acide galacturonique et de l'alcool méthyllique. Il nous est arrivé de rechercher la pectine-méthylesterase mais, comme de nombreux microbes possèdent cet enzyme, sa détection ne nous était pas de grande utilité pour nos déterminations.

Une solution aqueuse de pectine de pomme à 2 % additionnée de bleu de bromothymol est ajustée à pH7; 0,5 ml de cette solution sont ensemencés avec la purée microbienne. La réaction positive se traduit par une acidification du milieu.

5.3.26. Chitinolyse

La chitine, qui ne diffère de la cellulose que par son groupement aminé, est également la proie de certaines myxobactéries et d'autres bactéries du sol.

ZOBELL et RITTENBERG (1948) nomment chitinoclastiques, les germes qui attaquent totalement la chitine et chitinivores, ceux qui attaquent certains radicaux.

Dans les sables, les bactéries ont à leur disposition l'exosquelette des petits arthropodes et le mycelium des abondantes moisissures. Nous en avons discuté à propos du rapport C/N de l'humus (Réf. Par. 3.5.8.4.).

Il existe des méthodes de mise en évidence des produits d'hydrolyse acide de la chitine: la glucosamine et l'acide acétique. Ainsi que nous l'avons fait pour la cellulose, nous nous sommes tenue à la méthode physique d'observation d'hydrolyse.

On prépare la chitine en poudre du commerce en la mettant en solution dans de l'acide sulfurique à 50 %. On précipite dans un volume d'eau 10 fois supérieur au volume d' H_2SO_4 . On décante, on filtre et on lave le précipité à grandes eaux. On ajuste à pH 7.

On obtient ainsi une suspension colloïdale de chitine qui sera stérilisée et ajoutée à la gélose nutritive coulée en boîte de Pétri. La quantité sera suffisante pour rendre la masse de gélose opalescente. Les boîtes sont ensemencées en stries et la réaction positive se traduit par une clarification du milieu autour des stries.

5.3.27. Caséolyse

L'hydrolyse des caséines se vérifiait jadis sur des substrats à base de lait écrémé en poudre. BRISOU (1971) a constaté que les caséines du lait de vache et de jument sont plus fréquemment hydrolysées par les bactéries que celles du lait d'autres mammifères. Il faut actuellement donner la préférence aux caséines pures du commerce, entièrement débarrassées des graisses et des acides aminés libres. LOCHON (1972) a traité ce sujet dans une thèse sur la caséolyse. Il a pu constater qu'une bactérie caséolytique est obligatoirement gélatinolytique; l'inverse n'étant pas vrai .

Nous n'avons effectué ce test qu'occasionnellement car il était de peu d'utilité pour nos recherches.

Une solution de caséine à 10 % est ajustée à pH 7 et ajoutée à la gélose nutritive à raison de 3 ml par boîte. Les milieux sont ensemencés en stries et la caséolyse entraîne une clarification du milieu.

5.3.28. Hémolyse

Nous renseignons cette technique bien qu'elle soit peut utile dans le domaine qui nous occupe. Son intérêt réside plus dans la différentiation des germes pathogènes.

On incorpore 1 à 2 % d'hématies lavées dans des géloses nutritives; on ensemence le milieu et on vérifie l'hémolyse c.à.d. l'éclaircissement du milieu.

5.3.29. Glucosidase

Lorsque nous avons décrit les attaques enzymatiques du glucose, nous avons omis de mentionner les glucosidases, encore que nous ayons passé en revue de nombreux glycosides.

Il est question ici d' α -glucosidase recherchée sur des substrats où le glucose est greffé sur du p-nitrophénol.

Celui-ci, mis en liberté, colore le milieu en jaune.

Ce test a été peu utilisé dans nos recherches.

5.3.30. Coagulase

La recherche de la coagulase, comme celle de l'hémolyse, est pratiquée le plus souvent en bactériologie médicale ou alimentaire. Les staphylocoques pathogènes secrètent en effet une enzyme qui provoque la coagulation du sang. Seules, les espèces animales dont le sérum sanguin peut être coagulé par cette enzyme, sont sensibles aux infections staphylococciques.

On ajoute, dans un petit tube à hémolyse, 0,5 ml de plasma humain oxalaté à 0,5 ml de culture fraîche de staphylocoques. Le mélange est incubé à 37 °C. La présence de staphylocoques pathogènes se manifeste par la coagulation du milieu.

5.3.31. Résistance aux antibiotiques

Dans certains cas nous avons mis à profit la sensibilité de certaines espèces de germes aux antibiotiques afin de les différencier de leurs congénères.

Ainsi, *Bacteridium anthracis*, responsable de la maladie du charbon, est sensible à tous les antibiotiques tandis que les autres bactéridies du sol y sont insensibles. Lorsqu'un doute se présente on pratique la culture sur un milieu additionné d'une pastille d'antibiotique fournie dans le commerce.

5.3.32. Techniques immunologiques

Lorsque nous désirons une caractérisation plus poussée de certains germes nous utilisons des techniques immunologiques.

Ce test nous a servi dans la détermination de certain type de *Salmonella* trouvée dans le chenal de Nieuwpoort (DARTEVELLE, 1973). Il nous a servi également à connaître le sérotype de *l'Escherichia coli* que nous utilisions dans certaines recherches sur les Coliphages.

5.3.33. Lait

Le lait écrémé est un milieu que nous utilisons fréquemment pour la culture des bactéries. Bien qu'il ne constitue pas un substrat très spécifique, il permet de différencier les bactéries qui ne l'utilisent pas, celles qui le coagulent (par dénaturation des protéines due à l'acidification), celles qui le digèrent complètement et celles qui l'alcalinisent.

5.3.34. Remarque

Tenant compte des substrats groupés dans certains des paragraphes précédents, nous totalisons pour l'analyse enzymatique, un ensemble de 76 tests.

5.4. RESULTATS GLOBAUX

5.4.1. Généralités

Tant de facteurs interviennent dans la distribution des bactéries qu'il est impossible d'effectuer des comparaisons rigoureuses. On ne peut que se référer à des ordres de grandeur.

REUSZER(1933) trouve de 2 à 83 bactéries/ml dans 10 échantillons d'eau de mer prélevés simultanément au même endroit.

ZOBELL et FELTHAM (1934) en dénombrent de 43 à 750/ml en divers endroits situés à des distances différentes de la côte. En 1942, les mêmes auteurs en comptent de 194 à $4,4 \cdot 10^6$ /ml à l'embouchure du Mississippi; les variations étaient imputables à l'état de la marée.

En règle générale, le nombre diminue avec la profondeur de l'eau pour augmenter au niveau des sédiments.

Dans une étude quantitative portant sur une période de 10 ans, ZOBELL (1946) trouve une moyenne de 479 bactéries/ml dans les eaux de surface de LA JOLLA, en Californie.

En ce qui concerne les sédiments proprement dits, les nombres totaux varient fortement avec la profondeur. ZOBELL (1946) cite le chiffre de $3,8 \cdot 10^7$ /g de sédiments de surface, avec diminution progressive jusque 290/g à 100 inches de profondeur. Les sédiments littoraux ont été également soumis à quelques investigations quantitatives.

DELAMARE-DEBOUTEVILLE (1960) cite le chiffre de $3,3 \cdot 10^4$ à $1,6 \cdot 10^7$ bactéries aérobies/cm³ dans les premiers cm de sable d'une plage d'eau douce ; il remarque qu'on ne connaît à peu près rien sur le nombre de bactéries des plages marines mais, selon PENNAK, (1940) les quantités doivent être plus faibles.

Ceci serait dû au fait que ces plages, surtout les plages à marées, contiennent moins de matières organiques. Il est en tout cas certain que le problème de la pénétration des popu-

lations bactériennes et des algues dans le sable est un problème mal élucidé.

Lors d'une étude sur la pollution des plages (DARTEVELLE, 1973), nous avons eu l'occasion d'effectuer quelques dénombrements totaux sur les sables de surface.

Le nombre de bactéries variait de 37 à $2,3 \cdot 10^5$ /g de sable sec, lors de culture à l'eau douce et incubation à 37° C.

ANDERSON et MEADOWS (1969) ont détaché de la surface des grains de sable, après lavage au teepol à 0,1 % un nombre de bactéries viables allant de $2,6 \cdot 10^3$ à $2,4 \cdot 10^5$ /g de sable sec. BIANCHI (1973) a dénombré sur les côtes de Provence de $3 \cdot 10^5$ à $2,2 \cdot 10^7$ germes/g de sable humide dans les sédiments superficiels ; de $1,8 \cdot 10^5$ à $2,9 \cdot 10^6$ entre 2 et 5 cm de profondeur et de $2 \cdot 10^4$ à $4,4 \cdot 10^5$ entre 17 et 21 cm. Il ne va pas au-delà de cette profondeur. Il remarque qu'en raison de la rapide diminution de la concentration bactérienne dans l'épaisseur sédimentaire ainsi qu'en fonction de l'éloignement du rivage, on peut estimer que la zone d'activité intense des germes hétérotrophes est extrêmement limitée par rapport à la surface océanique.

Dans les sédiments, on ne peut pas relier les variations annuelles à l'évolution des populations macrobenthiques non plus qu'à celles de la réserve organique.

KHIYAMA et MAKEMSON (1973) ont dénombré les bactéries du sable de surface et de l'eau interstitielle d'une plage libanaise

exempte de marées. Ils obtiennent des chiffres variant de $1 \cdot 10^3$ à $4 \cdot 10^4$ /g de sable.

Un aperçu de ces diverses estimations nous montre que, dans les exemples cités, le nombre de bactéries varie de la dizaine d'unités à la dizaine de millions/g de sable. Rien d'étonnant dès lors à ce que les comparaisons soient difficiles, d'autant plus qu'il s'agit de plages soumises à des conditions de marée et de T° radicalement différentes. De surcroît, nous avons effectué nos mesures à une profondeur dix fois supérieure à celle à laquelle ont opéré la plupart des auteurs cités et nos chiffres sont donnés par g de sable sec. La comparaison avec le sable humide n'est possible que si on connaît l'état d'humidité de ce dernier (lui-même fonction de la taille des grains). Beaucoup des résultats publiés antérieurement ne mentionnent pas ce détail.

En fait, l'intérêt de ces dénombrements réside moins dans la connaissance du nombre total que dans l'interprétation des variations en fonction de divers paramètres. Il faut d'ailleurs se souvenir que s'il existe différentes méthodes de dénombrement sur milieu de culture, aucun milieu n'est propice à la croissance de tous les types de bactéries.

WAKSMAN et al (1933) considèrent qu'un comptage direct donne un résultat 1000 fois supérieur au dénombrement après culture. BRISOU et al (1963) ont obtenu après filtration, des chiffres 100 à 5000 fois supérieurs.

D'autre part, le comptage direct présente certains inconvénients tels le risque de tenir compte des bactéries mortes ou non viables, ou celui de confondre les bactéries avec d'autres particules. Il ne permet pas non plus de sélectionner, par la même occasion, les souches bactériennes, ainsi que nous avons voulu le faire en vue de leur détermination.

5.4.2. Technique

Le sable est prélevé de façon aseptique et lavé de la manière décrite dans le paragraphe 3.4.

Des aliquots du produit de lavage sont inclus dans ou étalés sur 10 ml de "tryptone glucose extract agar", préparé avec de l'eau interstitielle filtrée; le tout est coulé en boites de Pétri.

Les boites sont incubées à 20°C, aussi longtemps qu'il est nécessaire (en moyenne une quinzaine de jours) pour que le nombre de colonies reste constant.

Le comptage est effectué au moyen d'un compteur de colonies et le nombre est exprimé par g de sable sec; le sable étant pesé après séchage.

5.4.3. Résultats

Nos chiffres varient de l'ordre de centaines d'unités à celui de centaines de mille par g. de sable sec.

Les comptages totaux ont été effectués tout au long de l'année. Nous n'avons pas observé de différences en fonction de la saison : les variations sont parfois énormes à un même endroit, mais elles peuvent aller aussi bien dans le sens d'une augmentation du nombre que dans le sens d'une diminution de celui-ci.

Une analyse attentive des résultats met en évidence une seule comparaison valable : celle qui est établie en fonction des lieux de prélèvement et de la profondeur, sur la base de la moyenne des dénombrements. Ceci est représenté graphiquement à la fig. 5 (page 140bis).

On peut y remarquer que le tracé représentant les relevés du point 1 est le plus important et que les tracés des points suivants se font de plus en plus courts; ceci découle du fait que la nappe d'eau est atteinte plus rapidement lorsqu'on se rapproche de la mer. Il est aisément de le comprendre à l'examen de la fig. 1 qui montre que la profondeur maximum de chacun des trous correspond au niveau de la nappe d'eau souterraine.

5.4.4. Discussion

De ce qui précède, on peut finalement déduire que le nombre total d'aérobies

- a) diminue de la zone supralittorale vers la zone infralittorale,
- b) diminue avec la profondeur.

Ces résultats sont logiques si l'on considère que nous avons recherché les aérobies, favorisés par l'éloignement de la mer. Il peut paraître surprenant de trouver des nombres élevés dans une zone soumise quelquefois à une insolation et à un assèchement important. Nous avons cependant fait des observations de ce genre dans un précédent travail sur les plages (DARTEVELLE 1973). Il faut considérer que la majorité des espèces bactériennes rencontrées à ce niveau ont la faculté de sporuler ce qui leur donne une résistance accrue aux agents extérieurs. Nous y reviendrons dans le chapitre consacré à l'analyse des espèces.

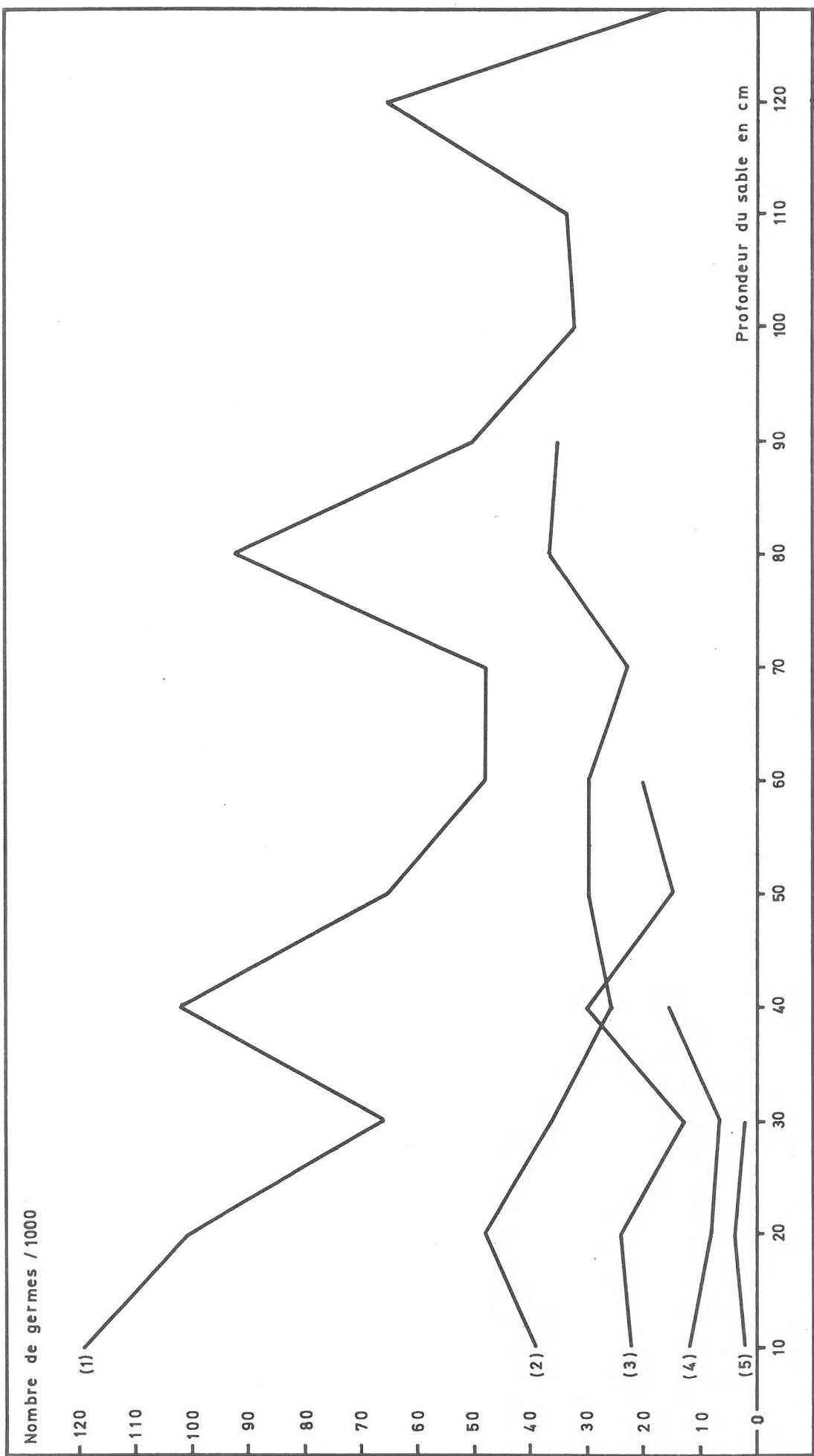


Fig. 5. - Nombre de graines totaux par g de sable sec. (De la zone supralittorale (1) vers la zone infralittorale (5)).

5.5. RESULTATS SPECIFIQUES

5.5.1. Choix de la classification

Les grandes classifications existantes sont malheureusement contradictoires selon qu'il s'agit de l'école française ("Systématique bactérienne" de PREVOT, 1961), de l'école américaine ("BERGEY's manual", 1957) ou de l'école soviétique ("Diagnostik der bacterien und actinomyceten" de KRASSILNIKOV, 1959).

Des modifications différentes ont été proposées par d'autres bactériologistes éminents. Le problème se complique encore par l'ubiquité des bactéries qui ne manifestent pas toujours le caractère qu'on attend d'elles, ou qui l'ont perdu en cours de stockage ou de culture.

Peut-être même serait-il plus exact de dire que nous n'avons pas encore trouvé de moyen d'analyse assez précis, et c'est d'ailleurs à cette tâche ardue que s'attellent ceux qui cherchent d'autres critères de spécificité. Nous avons développé ce problème dans le paragraphe 5.1.

Nous avons, quoique tenant compte du BERGEY's manual, choisi de reprendre ici, dans les grandes lignes, le classement de PREVOT et MAGROU, remanié par PREVOT en 1962 et structuré par BRISOU suivant une optique plus limpide, selon ce qu'il nomme les groupes physiologiques.

Il ne s'agit pas d'une nouvelle classification mais d'un moyen d'utiliser la systématique existante. Ce système a été utilisé avec succès par DENIS (1971) dans sa thèse sur les bactéries marines. Nous empruntons à cet auteur le tableau 12 (page 144) qui en illustre clairement le principe de base. Les bactéries s'inscrivent dans des ensembles dont les caractères enzymatiques sont aisés à déterminer en même temps qu'ils sont utilisés

depuis longtemps dans les techniques traditionnelles. En classant ainsi les germes suivant leur parenté biochimique, nous pouvons en tirer d'intéressantes observations sur l'écologie du milieu.

En effet, comme l'écrit DENIS (1971), le milieu sélectionne d'abord des groupes physiologiques, et non des "pseudo-espèces" toujours remises en discussion. La présence dominante d'un ensemble ou d'un sous-ensemble nous éclaire non seulement sur les qualités du milieu environnant, mais aussi sur l'action qu'a, sur ce milieu, le peuplement microbien.

C'est aussi ce que pense DE CONINCK (1972) quand il écrit que les données sur la bactériologie des sédiments sont excessivement rares. Il ajoute : "Domaine intéressant qui mérite d'être exploré. La connaissance des espèces de bactéries caractérisées par leurs systèmes enzymatiques, donnerait en même temps une idée de la part qu'elles prennent dans le processus de recyclage de la matière qui leur est dévolu."

Nous avons ainsi accordé une plus grande importance à l'écologie microbienne qu'à la systématique sans cesse controversée. Ceci nous amène à considérer le terme d'espèce dans le sens de "fonction dans la communauté".

C'est cette "fonction" que nous tenterons de mettre en évidence après l'analyse des divers processus enzymatiques.

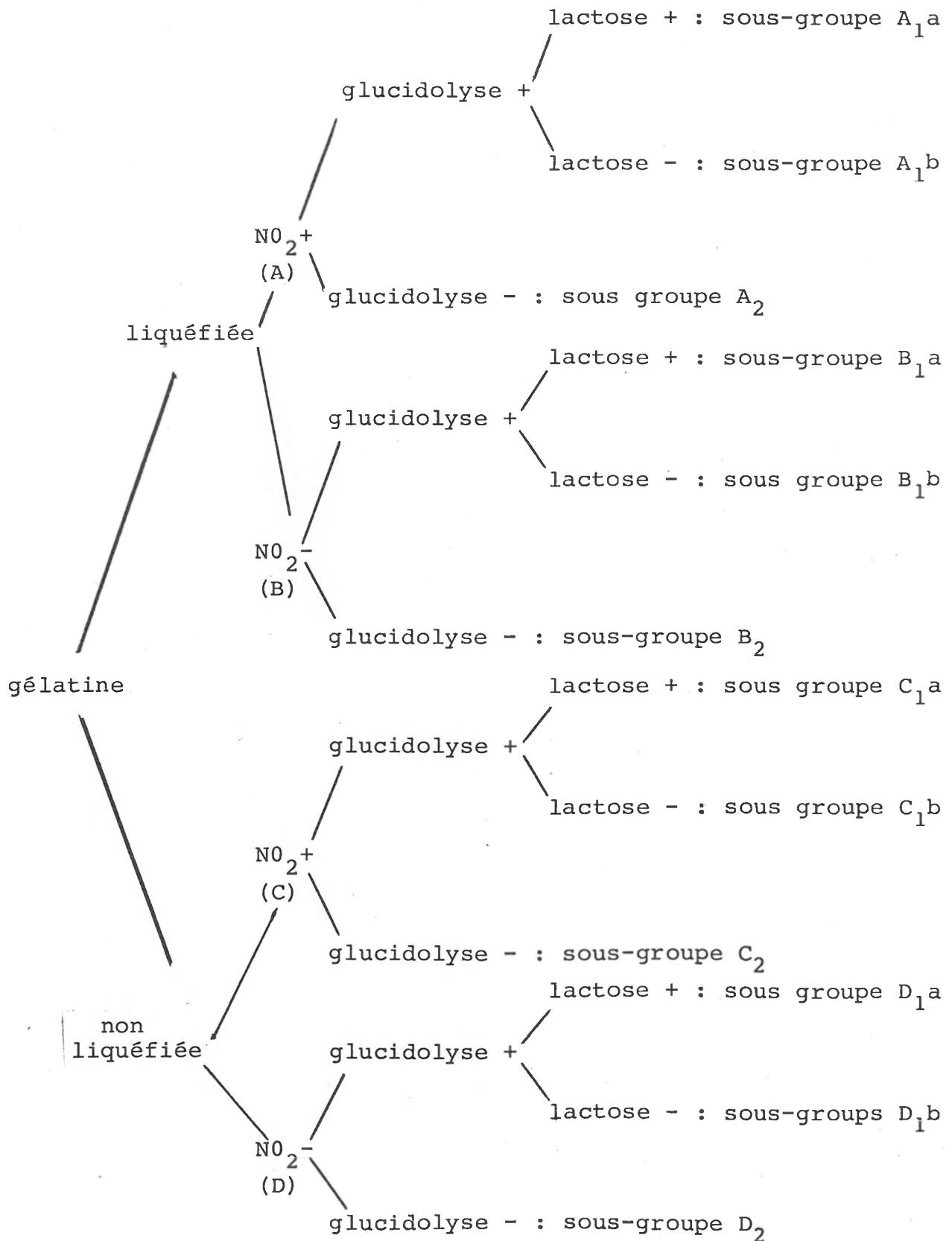


Tableau 12. - Schéma des groupes physiologiques : système horizontal

5.5.2. Résultats

5.5.2.1. Genre *Achromobacter* Magrou et Prévot, 1948

Bâtonnet court
Gram négatif
Non sporulé
Oxydase négatif
Aérobioie strict
Non gazogène
Mobile
Non pigmenté

Le Bergey's manual ne fait pas de distinction entre *Achromobacter* et *Acinetobacter*.

PREVOT (1961), BRISOU (1961), DENIS (1971) ont classé comme *Achromobacter*, les formes mobiles. Ce dernier auteur en décrit 22 espèces plus 4 variantes.

BUTTIAUX et GAGNON (1958) les tiennent pour immobiles mais ne considèrent pas l'oxydase.

Les cultures jeunes sont formées de cellules à forme cocoïde. On les rencontre principalement dans les sols et dans les eaux. Elles ne sont pas pathogènes pour les plantes.

<u>GROUPE</u>	<u>A₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	+	1/28

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 30 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

H₂S
catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

A. delicatulum : 1

<u>GROUPE A₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>3/28</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

eau du chenal : 3

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
lévulose, saccharose
mannitol
halophilie
culture à 20° et à 37°C

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

arabinose, xylose, rhamnose, raffinose, mélibiose, inuline
adonitol, dulcitol
lysine
urée
Tween
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

- A. lipolyticum* : 1
A. iophagum : 1
A. hyperopticum : 1

<u>GROUPE B₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>4/28</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 70 cm : 1
surface : 2
point n° 6 - 30 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
Tween
amidon

ESPECES REPRESENTEES

A. lipophagum : 2
A. amylovorum : 2

<u>GROUPE B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	nitrate	-	
	glucose	-	
	lactose	-	6/28

PROVENANCE DES SOUCHES

mer	: 1
point n° 1 - 50 cm	: 1
point n° 2 - 20 cm	: 1
point n° 2 - 60 cm	: 1
point n° 2 - 70 cm	: 1
point n° 6 - 30 cm	: 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

A. formosum et variantes : 5
A. spongium : 1

<u>GROUPE</u>	<u>C₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	-	2/28

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole	urée
H ₂ S	tween
citrate	catalase
ONPG	dulçaquicole
glycérol	

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

amidon
lysine

ESPECES REPRÉSENTÉES

A. gemmifex : 2

<u>GROUPE</u>	D ₁ a	gélatine	-	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	+	
		lactose	+	3/28

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 2
point n° 5 - 50 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
mannitol

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
amidon

ESPECES REPRESENTEES

A. albidum : 3

<u>GROUPE</u>	<u>D₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	
				<u>1/28</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 20 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPEONPG
urée
citrateESPECES REPRESENTEES*A. fecalotides* : 1

<u>GROUPE</u>	<u>D₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>-</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	
				<u>8/28</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 10 cm : 3
 point n° 2 - 20 cm : 2
 point n° 2 - 60 cm : 1
 point n° 4 - 40 cm : 1
 point n° 6 - 30 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
 halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 urée (sauf 1)
 mannitol
 amidon

ESPECES REPRESENTEES

A. mariense et variantes : 7

A. alcaligenes : 1

GENRE *Achromobacter*

TOTAL DES GROUPES

A ₁ a : 1	D ₁ a : 3
A ₁ b : 3	D ₁ b : 1
B ₁ b : 4	D ₂ : 8
B ₂ : 6	
C ₁ b : 2	

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

28

PROVENANCE DES SOUCHES

En mer ainsi qu'en surface et à différents niveaux de profondeur de la zone intertidale.

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	14/28 soit 50,0%
nitrate +	6/28 soit 21,4%
glucose +	14/28 soit 50,0%
lactose +	4/28 soit 14,3%
indole +	4/28 soit 14,3%
H ₂ S +	10/28 soit 35,7%

5.5.2.2. Genre *Acinetobacter* Brisou et Prévot, 1954

Bâtonnet court
Gram négatif
Non sporulé
Non pigmenté
Oxydase négatif
Immobile

Les *Acinetobacter* sont semblables aux *Achromobacter* mais ils sont immobiles.

PREVOT (1961) en décrit 17 espèces et DENIS (1971) en décrit 22.

Ils ont généralement des formes coccoïdes dans les cultures jeunes.

<u>GROUPE A₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/14</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

citrate
ONPG

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
lysine
Tween
indole
 H_2S

ESPECES REPRESENTEES

A. stationis : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	+	
		lactose	+	1/14

PROVENANCE DES SOUCHES

point n°2 - 10cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

halophilie

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
indole
 H_2S
citrate
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

A. butyri : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/14</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 10 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

tween
H₂S

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
ONPG
lait
indole

ESPECES REPRESENTEES

A. butyri : 1

(variante du précédent)

<u>GROUPE</u>	<u>B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>-</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>3/14</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 20 cm : 2
point n° 2 - 50 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPETESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
urée
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

A. marshalli : 3

<u>GROUPE C₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	nitrate	+	
	glucose	+	
	lactose	-	1/14

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 50 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

H₂S

CNPG

ESPECES REPRESENTEES

A. sp : 1

<u>GROUPE C₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>2/14</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1
 point n° 2 - 10 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
 halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 ONPG
 urée

ESPECES REPRESENTEES

- A. parvulum* : 1
A. spermophilum : 1

<u>GROUPE</u>	D ₁ b	gélatine	-	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	+	
		lactose	-	1/14

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 10 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

H₂S
halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
ONPG
urée

ESPECES REPRESENTEES

A. eurydice : 1

<u>GROUPE D₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>4/14</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 20 cm : 1
surface : 2
point n° 6 - 30 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
Tween

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
amidon

ESPECES REPRESENTEES

A. alcaligenes : 1
A. lwoffii var. halophile : 2
A. metalcaligenes : 1

GENRE *Acinetobacter*TOTAL DES GROUPES

A ₁ b : 1	C ₂ : 2
B ₁ a : 1	D ₁ b : 1
B ₁ b : 1	D ₂ : 4
B ₂ : 3	
C ₁ b : 1	

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

14

PROVENANCE DES SOUCHES

Dans les 50 premiers centimètres à partir de la surface

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	6/14 soit 42,9%
nitrate +	4/14 soit 28,6%
glucose +	5/14 soit 35,7%
lactose +	1/14 soit 7,1%
indole +	0/14 soit 0%
H ₂ S +	4/14 soit 28,6%

GENRE Achromobacter et AcinetobacterTOTAL DES GROUPES

A ₁ a : 1	C ₁ b : 3
A ₁ b : 4	C ₂ : 2
B ₁ a : 1	D ₁ a : 3
B ₁ b : 5	D ₁ b : 2
B ₂ : 9	D ₂ : 12

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

42

PROVENANCE DES SOUCHES

En mer ainsi qu'en surface et à différents niveaux de profondeur de la zone intertidale

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	20/42 soit 47,6%
nitrate +	10/42 soit 23,8%
glucose +	19/42 soit 45,2%
lactose +	5/42 soit 11,9%
indole +	4/42 soit 9,5%
H ₂ S +	14/42 soit 33,3%

5.5.2.3. Genres *Escherichia* Castellani et Chalmers, 1919
et *Klebsiella* Trevisan, 1885

Bâtonnet

Gram négatif

Non sporulé

Oxydase négatif

Fermentant les hydrates de carbone

Hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux, beaucoup d'Entérobactéries peuvent cependant survivre dans le sol et dans les eaux, présentant ainsi des risques de contamination (pollution fécale).

Nous ne les avons d'ailleurs retrouvées que dans les eaux, dans le sable de surface et dans les sédiments du chenal de Nieuwpoort. Elles sont totalement absentes du sable de profondeur.

<u>GROUPE</u>	<u>A₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	+	2/6

PROVENANCE DES SOUCHES

eau de mer : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

H₂S

galactose, arabinose, xylose, rhamnose, lévulose, mannose, maltose, mélibiose

sorbitol, manitol

ONPG

lysine

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

TDAM

arginine dihydrolase

urée

estérase

chitinase

ESPECES REPRESENTEES*Escherichia* sp : 1*Klebsiella oxytoca* : 1

<u>GROUPE C₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>3/6</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

sédiments du chenal : 2
 sable de surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
 tous les hydrates de carbone sauf inuline, amidon et dulcitol
 urée
 lysine
 citrate
 ONPG
 VP

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

TDAM
 ornithine
 arginine dihydrolase

ESPECES REPRESENTEES

Escherichia dispar : 1
Escherichia coli : 2

<u>GROUPE C₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/6</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

sédiments du chenal : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
arabinose, rhamnose, galactose, mannose, mélibiose
sorbitol, mannitol
lysine

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

maltose, raffinose, saccharose, inuline, salicine, amygdaline
inositol
ONPG
VP
citrate
TDAM
ornithine
arginine dihydrolase
urée

ESPECES REPRESENTEES

Escherichia alkalescens : 1

GENRE *Escherichia et Klebsiella*TOTAL DES GROUPES

A₁a : 2

C₁a : 3

C₁b : 1

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

6

PROVENANCE DES SOUCHES

sédiments du chenal : 5
sable de surface : 1

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine + 2/6 soit 33,3%

nitrate + 6/6 soit 100%

glucose + 6/6 soit 100%

lactose + 5/6 soit 83,3%

indole + 6/6 soit 100%

H₂S + 6/6 soit 100%

5.5.2.4. Genre *Flavobacterium* Brisou, 1957

Bâtonnet

Gram négatif

Non sporulé

Pigmentation de type caroténoïde

Oxydase négatif

PREVOT (1961) et DENIS (1971) nomment *Empedobacter* les formes immobiles.

Nous les avons groupées ici avec les formes mobiles.

BUTTIAUX et GAGNON (1958) considèrent que les formes mobiles ont une ciliature péritrice.

Ces germes sont des hôtes normaux des sols et de l'eau.

Quelques espèces peuvent être occasionnellement pathogènes.

GROUPE	A ₁ a	gélatine	+	NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	+	1/64

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

tous les glucides sauf lactose, amidon, inuline
mannitol

H₂S

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

amidon
inuline
lysine
urée
adonitol, dulcitol, sorbitol, inositol
indole

ESPECES REPRESENTEES

F. aurogenes ou var. : 1

GROUPE A ₁ b	gélatine	+	NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE
	nitrate	+	
	glucose	+	
	lactose	-	2/64

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
lysine
Tween

ESPECES REPRESENTEES

F. balustinum : 2

<u>GROUPE A₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>4/64</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 2
point n° 1 - 20 cm : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
ONPG
citrate

ESPECES REPRESENTEES

F. gelatinum : 2
F. lutescens : 1
F. sp : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B_a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	+	
		lactose	+	11/64

PROVENANCE DES SOUCHES

surface	:	2
point n° 2 - 10cm	:	7
point n° 5 - 10cm	:	1
point n° 6 - 30cm	:	1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
saccharose

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
citrate

ESPECES REPRESENTEES

F. halohydrium : 1
F. iridescent : 9
F. sp : 1

<u>GROUPE</u>	B ₁ ^b	<u>gélatine</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	-
		<u>glucose</u>	+
		<u>lactose</u>	-
			17/64

PROVENANCE DES SOUCHES

mer	:	1	point n° 1 - 150 cm : 4
surface	:	7	point n° 2 - 60 cm : 1
point n°1 -10 cm	:	1	point n° 2 - 70 cm : 1
point n°1 -20 cm	:	1	
point n°1 -40 cm	:	1	

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

ESPECES REPRESENTEES

<i>F. marinum et F. chitinochromum</i>	:	6
<i>F. aquatile</i>	:	9
<i>F. sp</i>	:	2

Remarque : L'utilisation des sucres est très variable

<u>GROUPE</u>	<u>B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	-	
		lactose	-	10/64

PROVENANCE DES SOUCHES

surface	:	4
point n°1 - 150 cm	:	2
point n°2 - 10 cm	:	1
point n°2 - 90 cm	:	1
point n°4 - 30 cm	:	1
point n°5 - 50 cm	:	1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

mobilité

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
indole

ESPECES REPRESENTEES

<i>F. sewanense</i>	:	4
<i>F. esteroaromaticum</i>	:	4
<i>F. piscidium</i>	:	1
<i>F. marinovirosum</i>	:	1

GROUPE	C ₁ b	gélatine	-	NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	-	1/64

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
urée
Tween

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

mobilité
ONPG
citrate

ESPECES REPRESENTEES

F. flavotenuis : 1

<u>GROUPE C₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>2/64</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
mobilité

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
ONPG
lysine
Tween
urée

ESPECES REPRESENTEES

F. denitrificans : 1
F. halobium : 1

GROUPE D ₁ a	gélatine	-	NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE
	nitrate	-	
	glucose	+	
	lactose	+	6/64

PROVENANCE DES SOUCHES

surface	:	3
point n° 1 - 10 cm	:	1
point n° 1 - 150 cm	:	1
point n° 2 - 10 cm	:	1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

ESPECES REPRESENTEES

F. sp : 6

<u>GROUPE</u>	<u>D₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHEs/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>4/64</u>

PROVENANCE DES SOUCHEs

point n° 1 - 150 cm : 4

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHEs DU GROUPE

maltose
mannitol
catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHEs DU GROUPE

indole

ESPECES REPRESENTEES

F. pfaffii : 4

<u>GROUPE</u>	D ₂	<u>gélatine</u>	-	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	-	
		<u>glucose</u>	-	
		<u>lactose</u>	-	6/64

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 10 cm : 2
point n° 2 - 20 cm : 1
point n° 2 - 80 cm : 1
point n° 5 - 50 cm : 1
point n° 7 - 40 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

mobilité
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

F. lacunatum : 1
F. ovale : 5

GENRE *Flavobacterium*TOTAL DES GROUPES

A ₁ a : 1	B ₂ : 10	D ₂ : 6
A ₁ b : 2	C ₁ b: 1	
A ₂ : 4	C ₂ : 2	
B ₁ a : 11	D ₁ a: 6	
B ₁ b : 17	D ₁ b: 4	

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

64

PROVENANCE DES SOUCHES

en surface et à tous les niveaux

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	45/64 soit 70,3%
nitrate +	10/64 soit 15,6%
glucose +	42/64 soit 65,6%
lactose +	18/64 soit 28,1%
indole +	0/64 soit 0%
H ₂ S +	13/64 soit 20,3%

5.5.2.5. Genre *Phytobacterium* Magrou et Prévot, 1948

Bâtonnet
Gram négatif
Non sporulé
Non pigmenté
Oxydase positif
Mobile

BUTTIAUX et GAGNON (1958) confirmant en cela le Bergey's manual, ne différencient pas ce genre du genre *Pseudomonas*.

PRÉVOT (1961) en décrit 24 espèces.

DENIS (1971) y joint les *Alcaligenes* oxydase positif, les *Aeromonas* et les *Agrobacterium*; il en décrit 60 espèces.

Ce genre a été proposé et défini en 1948 pour reclasser une partie des 137 espèces phytopathogènes comprises dans l'ancien terme générique "*Phytomonas*".

Il s'agit effectivement soit d'espèces pathogènes pour une ou pour diverses plantes, soit d'agents de pourriture végétale.

<u>GROUPE A₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>1/136</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

Eau du chenal de Nieuwpoort : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
les glucides sauf salicine
dulcitol, sorbitol, mannitol
lysine

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

adonitol
inositol
urée

ESPECES REPRESENTEES

Ph. liquefaciens : 1

<u>GROUPE</u>	<u>A₁ b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	-	7/136

PROVENANCE DES SOUCHES

mer	: 1
eau du chenal	: 2
sédiments du chenal	: 4

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
 lévulose, maltose
 mannitol
 amidon
 les 3 germes testés sont résistants à la pénicilline

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

adonitol, dulcitol
 lysine

ESPECES REPRESENTEES

<i>Ph. mephitica</i>	: 1
<i>Ph. fabae</i>	: 1
<i>Ph. harveyi</i>	: 2
<i>Ph. manihotis</i>	: 1
<i>Ph. seminum</i>	: 1
<i>Ph. sp.</i>	: 1

<u>GROUPE A₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	nitrate	+	
	glucose	-	
	lactose	-	7/136

PROVENANCE DES SOUCHES

surface	:	2
mer	:	1
point n° 2 - 10 cm	:	2
point n° 2 - 70 cm	:	1
point n° 6 - 30 cm	:	1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
résistance à la pénicilline
halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

Ph. cryosthasia : 2
Ph. halestorgus : 4
Ph. sp. : 1

<u>GROUPE B₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>1/136</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 70 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
saccharose
ONPG
mannitol
urée

ESPECES REPRESENTEES

Ph. atlantica : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>10/136</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

mer	:	7
point n° 2 - 70 cm	:	2
surface	:	1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
arabinose
résistance à la pénicilline

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée : 9/10

ESPECES REPRESENTEES

<i>Ph. littoralis</i>	:	3
<i>Ph. membraniformis</i>	:	1
<i>Ph. marinopersicum</i>	:	1
<i>Ph. obscurum</i>	:	3
<i>Ph. sp.</i>	:	2

<u>GROUPE</u>	<u>B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>-</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>37/136</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 10 cm : 1
 point n° 1 - 20 cm : 12
 point n° 1 - 40 cm : 2
 point n° 2 - 10 cm : 2
 point n° 2 - 20 cm : 10
 point n° 2 - 60 cm : 2
 point n° 2 - 70 cm : 2
 point n° 6 - 30 cm : 2
 mer : 4

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

<i>Ph. maublancii</i>	: 8
<i>Ph. maublancii-colurnae</i>	: 24
<i>Ph. astragali</i>	: 1
<i>Ph. mesentericus</i>	: 1
<i>Ph. marinoglutinosa</i>	: 1
<i>Ph. sp.</i>	: 2

Remarque : Sur 23 germes testés, 13 sont résistants à la pénicilline, tandis que 10 y sont sensibles.
 L'utilisation des sucres est très variable.

<u>GROUPE C₁</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>3/136</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

eau du chenal	:	1
sédiments du chenal :	:	2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
 H_2S
 saccharose

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 xylose, rhamnose, raffinose, mélibiose, inuline
 adonitol, dulcitol, sorbitol
 urée

ESPECES REPRESENTEES

Ph. tumefaciens : 3

<u>GROUPE C₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>3/136</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

<u>surface</u>	<u>:</u>	<u>1</u>
<u>sédiments du chenal</u>	<u>:</u>	<u>2</u>

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

citrate
dulçaquicole

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

produits réducteurs

ESPECES REPRESENTEES

Ph. helianthi : 1
Ph. rathonis : 1
Ph. sp. : 1

<u>GROUPE C₂</u>	<u>gélatine -</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate +</u>	
	<u>glucose -</u>	
	<u>lactose -</u>	13/136

PROVENANCE DES SOUCHES

surface	:	1
point n° 1 - 10 cm	:	1
point n° 2 - 10 cm	:	1
point n° 2 - 20 cm	:	2
point n° 4 - 40 cm	:	5
mer	:	1
sédiments du chenal	:	2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 arabinose, xylose, saccharose, salicine
 amidon
 glycérol, sorbitol, mannitol

ESPECES REPRESENTEES

<i>Ph. neriticum</i>	:	1
<i>Ph. saliciperda</i>	:	7
<i>Ph. indoloxidans</i>	:	4
<i>Ph. riboflavina</i>	:	1

REMARQUE : 3 germes testés sont résistants à la pénicilline.

<u>GROUPE</u>	<u>D₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	+	
		lactose	+	2/136

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 70 cm : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
estérase
résistance à la pénicilline

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
arabinose, saccharose
ONPG
mannitol
urée
lait

ESPECES REPRESENTEES

Ph. woodsi : 2

<u>GROUPE D₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>3/136</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1
point n° 2 - 20 cm : 1
point n° 5 - 50 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
résistance à la pénicilline

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
arabinose, saccharose
mannitol

ESPECES REPRESENTEES

Ph. andropogonis : 3

<u>GROUPE D₂</u>	<u>gélatine -</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate -</u>	
	<u>glucose -</u>	
	<u>lactose -</u>	49/136

PROVENANCE DES SOUCHES

surface	: 3	point n° 2 - 60 cm	: 2
point n° 1 - 150 cm	: 2	point n° 2 - 70 cm	: 8
point n° 2 - 10 cm	: 2	point n° 3 - 20 cm	: 2
point n° 2 - 20 cm	: 16	point n° 4 - 40 cm	: 6
point n° 2 - 30 cm	: 2	point n° 5 - 50 cm	: 1
point n° 2 - 40 cm	: 2	mer	: 3

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 ONPG sauf 2/49
 tous les glucides testés
 tous les alcools testés sauf quelquefois le mannitol

ESPECES REPRESENTEES

<i>Ph. stizolobii</i>	: 6
<i>Ph. cruciviae</i>	: 26
<i>Ph. lignicola</i>	: 11
<i>Ph. eribotryae</i>	: 5
<i>Ph. sp.</i>	: 1

REMARQUE : 15 germes testés sont résistants à la pénicilline.

GENRE *Phytobacterium*

TOTAL DES GROUPES

A ₁ a : 1	C ₁ a : 3
A ₁ b : 7	C ₁ b : 3
A ₂ : 7	C ₂ : 13
B ₁ a : 1	D ₁ a : 2
B ₁ b : 10	D ₁ b : 3
B ₂ : 37	D ₂ : 49

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

136

PROVENANCE DES SOUCHES

A tous les niveaux avec prédominance en surface, dans le chenal et dans l'eau de mer.

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	63/136 soit 46,3%
nitrate +	34/136 soit 25,0%
glucose +	30/136 soit 22,1%
lactose +	7/136 soit 5,1%
indole +	7/136 soit 5,1%
H ₂ S +	32/136 soit 23,5%

5.5.2.6. Genre *Pseudomonas* Migula, 1894

Bâtonnet
Gram négatif
Non sporulé
Pigment hydrosoluble
Oxydase positif
Attaque des hydrates de carbone par
voie oxydative
Mobile

BUTTIAUX et GAGNON (1958) confirmant en cela le
Bergey's manual, y joignent les *Phytobacterium*.

PREVOT (1961) en décrit 117 souches et DENIS (1971)
en décrit 70.

Les *Pseudomonas* comprennent un nombre important
d'espèces saprophytes. On les rencontre dans le
sol, dans l'air, dans l'eau et sur les plantes.
Ils constituent la majorité des espèces marines.
Trois d'entre eux jouent un rôle pathogène impor-
tant en médecine : *Ps.mallei*, *Ps.pseudomallei* et
Ps.aeruginosa ou bacille pyocyanique. Nous ne
les avons pas rencontrés.

GROUPE A ₁ b	gélatine	+	NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE
	nitrate	+	
	glucose	+	
	lactose	-	4/15

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 3
point n° 1 - 150 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
citrate
lait peptonisé
résistance à la pénicilline

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
amidon
culture à 37°C

ESPECES REPRESENTEES

Ps. chlorina : 3
Ps. intybi : 1

<u>GROUPE B₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>1/15</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

produits réducteurs
résistance à la pénicilline

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S

ESPECES REPRESENTEES

Ps. ananas : 1

<u>GROUPE Bb</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>+</u>	
	<u>glucose</u>		<u>4/15</u>
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	

PROVENANCE DES SOUCHES

mer : 1
surface : 3

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

H₂S

ESPECES REPRESENTEES

Ps. effusa : 2
Ps. multivorans : 1
Ps. reptilovorus : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>-</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>3/15</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

mer : 1
surface : 1
point n° 2 - 10 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
citrate

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
ONPG

ESPECES REPRESENTEES

Ps. sp. : 3

<u>GROUPE C₁b</u>	<u>gélatine -</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate +</u>	
	<u>glucose +</u>	
	<u>lactose -</u>	2/15

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
citrate
dulçaquicole
résistance à la pénicilline

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
Tween
amidon
urée

ESPECES REPRESENTEES

Ps. eisenbergii : 2

<u>GROUPE C₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHE S/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/15</u>

PROVENANCE DES SOUCHE S

sédiments du chenal : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHE S DU GROUPE

urée
produits réducteurs
résistance à la pénicilline

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHE S DU GROUPE

lysine
indole
 H_2S
tween
ONPG
tous les sucres et tous les alcools

ESPECES REPRESENTEE S

Ps. oleovorans : 1

GENRE *Pseudomonas*

TOTAL DES GROUPES

A ₁ b : 4	C ₁ b : 2
B ₁ a : 1	C ₂ : 1
B ₁ b : 4	
B ₂ : 3	

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

15

PROVENANCE DES SOUCHES

Partout mais plus souvent en surface

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	12/15	soit	80,0%
nitrate +	7/15	soit	46,7%
glucose +	11/15	soit	73,3%
lactose +	1/15	soit	6,7%
indole +	0/15	soit	0%
H ₂ S +	0/15	soit	0%

5.5.2.7. Genre *Xanthomonas* Dowson, 1939

Bâtonnet

Gram négatif

Non sporulé

Pigment jaune non hydrosoluble

Mobile

Oxydase positif

Le Bergey's manual en décrit 64 espèces, PREVOT (1961) en décrit 65 et DENIS (1971) en décrit 73 dont 6 immobiles.

BUTTIAUX et GAGNON (1958) tiennent compte de quelques espèces oxydase négatif.

La majorité de ces espèces sont pathogènes pour les plantes chez lesquelles elles produisent des lésions nécrotiques.

<u>GROUPE A</u>	<u>à gélatine</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHE S/TOTAL DU GENRE</u>
nitrate	+	
glucose	+	
lactose	+	2/25

PROVENANCE DES SOUCHE S

surface : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHE S DU GROUPE

catalase
 ONPG
 rhamnose, maltose, saccharose

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHE S DU GROUPE

indole
 H_2S
 xylose, lévulose, mélibiose, salicine
 adonitol, dulcitol, sorbitol, mannitol
 lysine
 urée

ESPECES REPRESENTEES

X. marinoflava : 1
X. rubrifilamentans : 1

REMARQUE :

X. marinoflava est immobile, agarolytique et halophile

<u>GROUPE A₁</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/25</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

tween
citrate

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

ONPG
urée
lipase
indole
 H_2S
amidon
xylose

ESPECES REPRESENTEES

X. oceanica : 1

<u>GROUPE A₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	nitrate	+	
	glucose	-	
	lactose	-	2/25

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1
point n° 1 50cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
ONPG
mannitol

ESPECES REPRESENTEES

X. caudata : 1
X. lactucae scariole : 1

<u>GROUPES</u>	<u>B₁</u>	<u>a gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>2/25</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 70cm : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

ONPG
halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
indole
 H_2S

ESPECES REPRESENTEES

X. perlurida ou *incanae* : 2

<u>GROUPE</u>	B ₁ b	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	3/25

PROVENANCE DES SOUCHES

mer : 2
 surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

H₂S

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

arabinose, rhamnose, mannose, raffinose, mélibiose
 inuline, salicine
 adonitol, dulcitol, sorbitol, inositol
 citrate

ESPECES REPRESENTEES

X. manihotis : 2

X. hyacinthi : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>-</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>2/25</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPETESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
mannitol
citrate

ESPECES REPRESENTEES*X. cutirubra* : 2

<u>GROUPE C₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>1/25</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

amidon

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

tween
indole
 H_2S
saccharose

ESPECES REPRESENTEES*X. sp.* : 1

<u>GROUPE</u>	<u>C₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	-	1/25

PROVENANCE DES SOUCHES

mer : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

lipase
Tween
citrate

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

ONPG
urée
alcools

ESPECES REPRESENTEES

X. pictorum : 1

<u>GROUPE</u>	<u>D₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	+	
		lactose	+	5/25

PROVENANCE DES SOUCHES

mer : 1
surface : 1
point n° 2 - 70cm 3

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S

ESPECES REPRESENTEES

X. lacunogenes : 4
X. sp. : 1

REMARQUE : formes immobiles

<u>GROUPE</u>	D ₁ b	gélatine	-	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	+	
		lactose	-	3/25

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 3

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
mannitol

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
saccharose
lysine

ESPECES REPRESENTEES

X. sp. : 3

<u>GROUPE</u>	D ₂	<u>gélatine</u>	-	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	-	
		<u>glucose</u>	-	
		<u>lactose</u>	-	3/25

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 50cm : 1
point n° 1 - 100cm : 1
point n° 2 - 50cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

ONPG

ESPECES REPRESENTEES

X. suberfaciens : 2
X. solare : 1

GENRE *Xanthomonas*TOTAL DES GROUPES

A ₁ a : 2	C ₁ a : 1
A ₁ b : 1	C ₁ b : 1
A ₂ : 2	D ₁ a : 5
B ₁ a : 2	D ₁ b : 3
B ₁ b : 3	D ₂ : 3
B ₂ : 2	

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

25

PROVENANCE DES SOUCHES

Mer, surface et tous les niveaux

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	12/25 soit 48,0%
nitrate +	7/25 soit 28,0%
glucose +	18/25 soit 72,0%
lactose +	10/25 soit 40,0%
indole +	1/25 soit 4,0%
H ₂ S +	4/25 soit 16,0%

5.5.2.8. Genre *Chromobacterium* Bergonzini, 1881

Bâtonnet
Gram négatif
Non sporulé
Oxydase négatif

Ce genre fait partie des Pseudomonadaceae.

Il développe un pigment violet voisin de l'indigo (la violacéine), soluble dans l'alcool mais non dans l'eau ni dans le chloroforme.

Saprophyte du sol et des eaux, il est rarement pathogène.

<u>GROUPE A₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/1</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE H_2S
citrateTESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPEindole
mannitolESPECES REPRESENTEES*Ch. violaceum* : 1

5.5.2.9. Genre *Gaffkia* Trevisan, 1885

Cocci

Gram positif

Disposé en tétrades régulières

Ce genre fait partie de la Famille des Micrococcaceae et de la tribu des Staphylococceae au même titre que les *Staphylococcus* (PREVOT, 1961). Cet auteur en décrit 5 espèces dont une anaérobiose stricte.

Elles ne sont pas pathogènes pour l'homme mais quelquefois pyogènes.

<u>GROUPE</u>	<u>B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>-</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	
				<u>1/1</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

sédiments du chenal : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
lait digéré (pH inchangé)
culture à 37°C

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
lysine
les alcools
les glucides

ESPECES REPRESENTEES

G. vernetti : 1

5.5.2.10. Genre *Sarcina* Goodsir, 1933

Cocci

Gram positif

Disposé en paquets réguliers selon
3 plans perpendiculaires

Ce genre fait partie de la Famille des Micrococcaceae et de la tribu des Micrococceae au même titre que les *Micrococcus* (PREVOT, 1961).

Beaucoup d'espèces sont pigmentées. Certaines peuvent sporuler.

PREVOT (1961) en décrit 10 espèces dont 4 anaérobies. DENIS (1971) en décrit 9.

COWAN et STEEL (1966) ont proposé de ne désigner sous le nom de *Sarcina* que les espèces anaérobies.

<u>GROUPE</u>	<u>B₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/2</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 40cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

maltose, saccharose
Tween
pigment jaune citron
croissance à 20°C et 37°C en eaux douce et salée

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
oxydase

ESPECES REPRESENTEES

S. sp. : 1

<u>GROUPE</u>	D ₁ b	gélatine	-	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	-	
		glucose	+	
		lactose	-	1/2

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 6 - 30cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

maltose, saccharose
Tween
pigment jaune citron
croissance à 20°C et 37°C en eaux douce et salée

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S

ESPECES REPRESENTEES

S. sp. : 1

5.5.2.11. Genre *Micrococcus* Cohn, 1872

Cocci

Gram positif

Disposés en amas irréguliers non plans

Métabolisme oxydatif

Ce genre fait partie de la Famille des Micrococcaceae et de la tribu des Micrococceae au même titre que les *Sarcina* (PREVOT, 1961).

Cet auteur en décrit 19 espèces dont 6 sont anaérobies et peuvent être pathogènes. DENIS (1971) en décrit 22.

Les aérobies sont généralement saprophytes.

<u>GROUPE</u>	<u>B₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>9/19</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 5
 point n° 1 - 90cm : 1
 point n° 1 - 150cm : 1
 point n° 4 - 40cm : 1
 point n° 7 - 40cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 urée
 oxydase

ESPECES REPRESENTEES

M. eucinetus : 4
M. aquivivus : 4
M. sp. : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>-</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/19</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 150 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPETESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S

ESPECES REPRESENTEES

M. lysodeikticus : 1

<u>GROUPE C₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>3/19</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 10 cm : 1
point n° 5 - 40 cm : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
chromogénèse

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

oxydase
indole
 H_2S
urée
mobilité

ESPECES REPRESENTEES

M. infimus : 2
M. rubens ou var.: 1

<u>GROUPE C₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/19</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 60 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
Tween
ONPG
oxydase

ESPECES REPRESENTEES

M. sp. : 1

<u>GROUPE D₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	- nitrate	-
	+ glucose	
	- lactose	4/19

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 2
 point n° 1 = 50cm : 1
 point n° 4 = 10cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
 ONPG
 oxydase
 mobilité
 halophilie facultative

ESPECES REPRESENTEES

M. luteus : 3
M. sp. : 1

<u>GROUPE D₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	
			<u>1/19</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 40 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
H₂S
urée
ONPG
oxydase

ESPECES REPRESENTEES

M. afermentans : 1

GENRE *Micrococcus*TOTAL DES GROUPES

B₁b : 9 D₂ : 1
B₂ : 1
C₁b : 3
C₂ : 1
D₁b : 4

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

19

PROVENANCE DES SOUCHES

En surface et à tous les niveaux

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	10/19 soit 52,6%
nitrate +	4/19 soit 21,1%
glucose +	16/19 soit 84,2%
lactose +	0/19 soit 0%
indole +	0/19 soit 0%
H ₂ S +	4/19 soit 21,1%

5.5.2.12. Genre *Neisseria* Trevisan, 1885

Cocci

Gram négatif

Disposés en paires, la face d'ac-
colement étant légèrement
aplatie

Immobiles

Ces espèces sont saprophytes ou parasites.

Deux sont pathogènes pour l'homme : *N.gonorrhoeae*
et *N.meningitidis*.

Les espèces anaérobies ne sont pas admises par le
Bergey's manual qui les rattache au genre *Veillo-*
nella.

PREVOT (1961) en décrit 14 espèces dont 4 anaéro-
bies.

<u>GROUPE</u>	<u>B₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>1/1</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

Tween
urée (+)
ONPG
arabinose

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

H₂S
indole
lysine
mannitol
oxydase

ESPECES REPRESENTEES

N. morrhuae : 1

5.5.2.13. Genre *Bacillus* Cohn, 1872

Bâtonnets isolés ou en chaînes
Pouvant sporuler
Gram positif et négatif
Généralement mobiles

Nous développerons plus longuement ce groupe qui se trouve être le mieux représenté dans le biotope étudié.

Il convient de remarquer que la fréquence de ce genre est relativement faible en mer. DENIS (1972), dans une étude sur les *Bacillus*, cite les chiffres de 5 % en haute mer et 8 % dans la zone côtière. D'autre part, il fait mention de 3 auteurs chez lesquels il relève respectivement les pourcentages suivants en *Bacillus* :

- pour KRISS (1959), 4 % en mer;
- pour WOOD (1953), 7 % en mer;
- pour VENKATARAMAN et SREENIVASAN (1954), 40,2 % au large de Calcutta.

La plupart des *Bacillus* sont des saprophytes, très répandus dans la nature et cultivant bien sur milieu gélosé ordinaire. Une seule espèce, *B.antracis*, immobile et souvent encapsulée, est pathogène pour l'homme. Cependant, d'autres espèces peuvent provoquer des infections (principalement chez des sujets déficients) ou, encore, donner lieu à des empoisonnements alimentaires (ANON., 1970).

La synthèse taxonomique la plus récente sur ce groupe bactérien nous est fournie par GESLIN (1975). Elle remarque que, si le diagnostic des *Bacillus* est relativement aisé, il n'en est pas de même de l'identification des différentes espèces qui s'avère être une entreprise délicate en raison de 2 faits essentiels :

- la discordance existant entre les descriptions faites par des auteurs différents;
- l'important équipement enzymatique de ces espèces, rendant difficile la mise en évidence de critères biochimiques de differentiation.

Mettant ensuite en parallèle les clés d'identification proposées par le Bergey's manual, BONDE (1973), DENIS (1971), GORDON (1973), JOLY (1973), KNIGHT et PROOM (1950), LEMILLE et al (1969), PREVOT (1961), SMITH et al (1952) et THIBAULT (1971), elle en établit le bilan et souligne les réactions trouvées identiques par tous les auteurs cités ou par la majorité d'entre eux. Elle en conclut que la confiance pouvant être accordée aux diverses épreuves est variable de l'une à l'autre. Les plus fidèles sont les cultures sur gélose glucosée, bouillon hypersalé, pomme de terre, bouillon glucosé anaérobie, mobilité, catalase, lysine-décarboxylase, TDAM, APP et indole. Elle note d'importantes discordances notamment pour le Gram, le RM, le citrate, les nitrites, l'amidon, la caséine, la gélatine, l'ONPG ainsi que pour de nombreuses fermentations sucrées. Elle signale également que, dans sa huitième édition non encore publiée intégralement, le Bergey's manual révise sa position anciennement basée sur la morphologie des spores; désormais, il considérera comme officielles 22 espèces, rassemblant 26 autres sous le vocable "incertae sedis".

Pour notre part, nous avons conservé la taxinomie de DENIS (1971) pour les espèces les plus aisément déterminables.

Néanmoins, nous avons regroupé tous les *Bacillus*, qu'ils soient mobiles ou non et quelle que soit leur réaction à la coloration de Gram. En effet,

PREVOT (1958) et DENIS (1971) dénomment *Innominatus* les *Bacillus* Gram négatif ou les *Bacillus* Gram douteux et *Bacteridium* les *Bacillus* immobiles.

Dans les cas douteux, nous nous sommes référée à GESLIN (1975) ainsi qu'aux différents auteurs cités par elle.

Nous avons enfin eu recours à la haute compétence de J. BRISOU qui a bien voulu nous aider de ses conseils.

<u>GROUPE A₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>+</u>	
	<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>2/194</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

surface : 1
 point n° 6 - 30 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

xylose, saccharose

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S
 citrate
 oxydase
 chromogénèse

ESPECES REPRESENTEES

B. licheniformis : 2

<u>GROUPE</u>	<u>A₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	34/194

PROVENANCE DES SOUCHES

mer	:	5	point n° 2 - 40 cm :	2
sédiments du chenal	:	5	point n° 2 - 50 cm :	1
surface	:	5	point n° 2 - 70 cm :	1
point n° 1 - 100 cm	:	1	point n° 3 - 20 cm :	1
point n° 1 - 150 cm	:	1	point n° 4 - 40 cm :	1
			point n° 5 - 50 cm :	5
			point n° 6 - 30 cm :	6

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
 métabolisme du glucose : oxydo-fermentatif

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

ESPECES REPRESENTEES

<i>B. megaterium</i>	:	2
<i>B. michaelsii</i>	:	1
<i>B. stearothermophilus</i>	:	3
<i>B. pulvifaciens</i>	:	1
<i>B. cereus</i> et var.	:	10
<i>B. brevis</i>	:	7
<i>B. morulans</i>	:	1
<i>B. subtilis</i>	:	2
<i>B. circulans</i>	:	1
<i>B. laterosporus</i>	:	4
<i>B. licheniformis</i>	:	2

<u>GROUPE A₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>2/194</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 150 cm : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

H₂S

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

citrate
indole

ESPECES REPRESENTEES

B. firmus : 2

<u>GROUPE</u>	<u>B₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>+</u>	<u>4/194</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 10 cm : 1
point n° 1 - 20 cm : 1
point n° 2 - 10 cm : 1
point n° 2 - 60 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

catalase
halophilie préférentielle
métabolisme du glucose : oxydo-fermentatif

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole
 H_2S

ESPECES REPRESENTEES

B. solidus foliaceus : 3
B. alvei : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>140/194</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

Tous les niveaux du sable. Les espèces orangées se retrouvent en majorité (65%) dans la zone supralittorale.

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

métabolisme du glucose : oxydo-fermentatif
B. thermoindifferens : thermophilie
B. sp. orangé : maltose, saccharose
 mannitol, glycérol
 anaérobiose facultative
 culture à 20° et 37°C
 halophilie préférentielle

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

B. sp. orangé : indole
 H₂S
 cellulolyse, chitinolyse
 VP, RM

ESPECES REPRESENTEES

<i>B. sp. non chromogène</i>	: 6
<i>B. pepo, rose</i>	: 1
<i>B. thermoindifferens, non chromogène</i>	: 12
<i>B. sp., orangé</i>	: 121

REMARQUE : le *B.sp.*, à chromogénèse orangée, est analysé en détails dans les conclusions.

<u>GROUPE B₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
	<u>glucose</u>	<u>-</u>	
	<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>2/194</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point 6 - 30 cm : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

amidon
urée
glycérol

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

cellulolyse, chitinolyse
indole
H₂S
rouge de méthyl
citrate

ESPECES REPRÉSENTÉES

B. badius : 1
B. desiccans : 1

<u>GROUPE</u>	<u>C₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	+	1/194

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 5 - 50 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

tween
mannitol
les sucres testés

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée
citrate

ESPECES REPRESENTEES

B. calidolactis : 1

<u>GROUPE</u>	<u>C₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>+</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>2/194</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 150 cm : 1
point n° 6 - 30 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

ONPG
saccharose
amidon

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

sorbitol
urée
lysine
citrate

ESPECES REPRESENTEES

B. sp. : 2

<u>GROUPE</u>	<u>D₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>-</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>4/194</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

<u>mer</u>	<u>:</u>	<u>1</u>
<u>point n° 2 - 10 cm</u>	<u>:</u>	<u>1</u>
<u>point n° 2 - 20 cm</u>	<u>:</u>	<u>1</u>
<u>point n° 7 - 40 cm</u>	<u>:</u>	<u>1</u>

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPETESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

salicine
indole

ESPECES REPRESENTEES

B. lentus : 2
B. sp. : 2

<u>GROUPE D₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	
	<u>glucose</u>	
	<u>lactose</u>	3/194

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 1 - 150 cm : 1
point n° 6 - 30 cm : 2

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPETESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

mannitol
indole
H₂S

ESPECES REPRESENTEES

B. albus : 1
B. sp. : 2

TOTAL DES GROUPES

A ₁ a : 2	B ₁ b : 140	D ₁ b : 4
A ₁ b : 34	B ₂ : 2	D ₂ : 3
A ₂ : 2	C ₁ a : 1	
B ₁ a : 4	C ₁ b : 2	

NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

194

PROVENANCE DES SOUCHES

Tous les niveaux du sable. Les espèces orangées deviennent majoritaires dans la zone supralittorale.
Les autres espèces sont un peu plus abondantes en surface du sable.

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine +	184/194 soit 94,8%
nitrate +	41/194 soit 21,1%
glucose +	187/194 soit 96,4%
lactose +	7/194 soit 3,6%
indole +	0/194 soit 0%
H ₂ S +	25/194 soit 12,9%

5.5.2.14. Genre *Mycococcus* Krassilnikov, 1938

Cellule sphérique ou allongée
Germe de la même façon que les conidies des Actinomycètes

Le Bergey's manual les classe dans la Famille des Mycobacteriaceae avec les *Mycobacterium*; les autres Familles étant : Actinomycetaceae
Streptomycetaceae
Actinoplanaceae.

PREVOT (1961), par contre, ne place dans les Mycobacteriaceae que les *Mycobacterium* c'est-à-dire les acido-résistants, à ramifications également courtes et rares, et sans conidies.

Un second groupe comprend, dans l'ordre des Actinobactériales, 4 Familles : Sphaerophoraceae
Actinomycetaceae
Streptomycetaceae
Actinoplanaceae

Les *Mycococcus* feraient partie des Actinomycetaceae.

<u>GROUPE</u>	<u>B₁a</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>+</u>	
				<u>2/2</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

mer : 1
 point n° 5 - 40 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

urée

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

H₂S

ONPG

ESPECES REPRESENTEES

M. sp. 2

5.5.2.15. Genres *Actinoplanes* Couch, 1950et *Streptomyces* Waksman et Henrici, 1943

Ces groupes font également partie des Actinomycetaceae.

Il en est discuté dans les groupements bactériens spéciaux (paragraphe 6.4).

Selon la clé proposée par LECHEVALIER (1964), nous les avons classés en :

Actinoplanes : mycelium aérien généralement absent,
gros sporangiospores mobiles.

Streptomyces : mycelium aérien,
pas de sporanges mais conidies aériennes en chaînes ou en groupes.

<u>GROUPE</u>	<u>B₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>2/2</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

point n° 2 - 20 cm : 1

point n° 6 - 30 cm : 1

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

indole

H₂S

ESPECES REPRESENTEES

S. sp. : 1

A. sp. : 1

5.5.2.16. Genres *Vibrio* Muller, 1773
 et *Spirillum* Ehrenberg, 1832

Bâtonnet droit ou incurvé
 Gram négatif
 Asporulé
 Mobile
 Oxydase positif

Ces bactéries ont été rangées par PREVOT (1958) en 2 familles distinctes :

- les Vibrionaceae, cellules droites ou incurvées en virgule, fermentatives, aérobies-anaérobies facultatives ou anaérobies strictes.

Deux espèces sont pathogènes pour l'homme : *Vibrio cholerae* et *Vibrio el Tor*.

Elles cultivent sur milieux nutritifs simples.

- les Spirillaceae, cellules incurvées ou hélicoïdales, aérobies strictes ou microaérophiles. Elles cultivent difficilement sur milieux nutritifs habituels.

Le Bergey's manual groupe l'ensemble dans une même famille, celle des Spirillaceae.

DENIS (1971), dans sa thèse sur les bactéries marines, n'envisage que les vibrions. Il en décrit 40 espèces.

BIANCHI (1971) a fait une étude sur 7 vibrions de haute mer et les a comparés à leurs homologues non marins. Leur spectre nutritionnel est plus étroit que celui des vibrions pathogènes. De plus, ils exigent une température de culture inférieure à 20° C et une salinité comprise entre 1 et 7 %. Ces 7 souches appartiennent à une espèce non encore

décrise mais ils sont très semblables à *V.marinus* et *V.noctulica*.

Les autres phénons sont nettement distincts.

RUEGER (1972) fait état de la confusion qui règne dans l'établissement des critères d'identification et suggère de créer le genre *Marinovibrio* distinct du genre *Vibrio*. Ce nouveau genre grouperait les cellules requérant de l'eau de mer pour leur croissance ainsi qu'une température égale ou inférieure à 30° C.

Il en décrit 4 espèces : *Marinovibrio algosus*, *M.alipolyticus*, *M.aristei* et *M.fischeri*.

La littérature est abondante sur ces organismes car ils sont largement représentés en milieu marin. Par contre, nous avons rencontré très peu de *Vibrio* dans les sables étudiés.

Nous pensons que les Spirillum y sont plus abondants mais qu'ils nécessitent des conditions de culture particulières. Nous en discuterons dans la conclusion.

<u>GROUPE A</u>	<u>b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		nitrate	+	
		glucose	+	
		lactose	-	1/8

PROVENANCE DES SOUCHES

mer

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

H₂S
Tween
amidon

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

tous les glucides sauf amidon
tous les alcools.

ESPECES REPRESENTEES

V. anguillarum B : 1

<u>GROUPE</u>	<u>B₁b</u>	<u>gélatine</u>	<u>+</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHES/TOTAL DU GENRE</u>
		<u>nitrate</u>	<u>-</u>	
		<u>glucose</u>	<u>+</u>	
		<u>lactose</u>	<u>-</u>	<u>1/8</u>

PROVENANCE DES SOUCHES

mer

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

sorbitol, mannitol, inositol
citrate

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHES DU GROUPE

lysine
indole
 H_2S
amidon

ESPECES REPRESENTEES

V. sp. : 1

<u>GROUPE C₂</u>	<u>gélatine</u>	<u>NOMBRE DE SOUCHE/S/TOTAL DU GENRE</u>
	<u>nitrate</u>	<u>+</u>
	<u>glucose</u>	<u>-</u>
	<u>lactose</u>	<u>-</u>
		<u>6/8</u>

PROVENANCE DES SOUCHE

point n° 1 - 150 cm : 6

TESTS POSITIFS POUR TOUTES LES SOUCHE DU GROUPE

urée
Tween
oxydase
pigment vert diffusible
culture sur eau douce et sur eau de mer à 8°, 20° et 37°C

TESTS NEGATIFS POUR TOUTES LES SOUCHE DU GROUPE

indole
H₂S
sucres et alcools testés.

ESPECES REPRESENTEES

S. sp. : 6

REMARQUE : Ces germes proviennent d'une culture de Ciliés dans laquelle ils se reproduisent facilement (symbiose ou commensalisme).

TOTAL DES GROUPESA₁b : 1B₁b : 1C₂ : 6NOMBRE DE SOUCHES ETUDIEES

8

PROVENANCE DES SOUCHES

Vibrio en mer

Spirillum dans le sable profond.

POURCENTAGE DES TESTS POSITIFS PRATIQUES SYSTEMATIQUEMENT

gélatine + 2/8 soit 25,0%

nitrate + 7/8 soit 87,5%

glucose + 2/8 soit 25,0%

lactose + 0/8 soit 0%

indole + 0/8 soit 0%

H₂S + 1/8 soit 12,5%

GENRES	GROUPES								TOTALS PAR GENRE		% PAR GENRE		
	A ₁ a	A ₁ b	A ₂	B ₁ a	B ₁ b	B ₂	C ₁ a	C ₁ b	C ₂	D ₁ a	D ₁ b	D ₂	
<u>Achromobacter</u>	1	3	-	-	4	6	-	2	-	3	1	8	28
<u>Acinetobacter</u>	-	1	-	1	1	3	-	1	2	-	1	4	14
<u>Escherichia et Klebsiella</u>	2	-	-	-	-	-	3	1	-	-	-	-	6
<u>Flavobacterium</u>	1	2	4	11	17	10	-	1	2	6	4	6	12,4
<u>Phytobacterium</u>	1	7	7	1	10	37	3	3	13	2	3	49	136
<u>Pseudomonas</u>	-	4	-	1	4	3	-	2	1	-	-	-	15
<u>Xanthomonas</u>	2	1	2	2	3	2	1	1	-	5	3	3	25
<u>Chromobacterium</u>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<u>Gaffkia</u>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
<u>Sarcina</u>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	2	0,4
<u>Micrococcus</u>	-	-	-	-	9	1	-	3	1	-	4	1	19
<u>Neisseria</u>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
<u>Bacillus</u>	2	34	2	4	140	2	1	2	-	-	4	3	194
<u>Mycococcus</u>	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4
<u>Actinoplanes et Streptomyces</u>	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	0,4
<u>Vibrio et Spirillum</u>	-	1	-	-	1	-	-	-	6	-	-	-	8
TOTALS PAR GROUPE	9	54	15	23	192	65	8	16	25	16	21	74	518
% PAR GROUPE	1,7	10,4	2,9	4,4	37,1	12,5	1,5	3,1	4,8	3,1	4,1	14,3	

Tableau 13.- Inventaire récapitulatif des résultats - Groupes.

TESTS	NOMBRES	%	TESTS	NOMBRES	%
Gram	75/518	14,5	Maltose	170/253	67,2
Chromogénèse	253/518	48,9	Raffinose	12/ 76	15,8
Aérobiose	518/518	100	Saccharose	188/327	57,5
Sporulation	194/518	37,4	Mélibiose	30/113	26,5
Mobilité	379/518	73,1	Inuline	9/105	8,6
Oxydase	223/518	43,1	Salicine	76/268	28,4
Catalase	87/ 87	100	Adonitol	3/105	2,9
Nitrate-réductase	127/518	24,5	Dulcitol	2/104	1,9
Lipase	2/ 36	5,5	Glycérol	82/187	43,9
Estérase	175/304	57,6	Sorbitol	29/274	10,6
Pénicillinase	56/66	85,0	Mannitol	190/360	52,8
Thermophilie	18/33	54,5	Inositol	19/104	18,3
Halophilie	453/518	87,5	Amidon	97/319	30,4
Croissance sur eau douce	353/518	68,1	Citrate	48/288	16,6
Métabolisme oxydatif	333/518	64,3	Indole	18/518	3,4
Métabolisme fermentatif	313/518	60,4	H ₂ S	105/518	20,3
Gélatine	358/518	69,0	ONPG	181/474	38,2
Glucose	339/518	65,0	VP	13/ 96	13,5
Lactose	54/518	10,4	RM	4/101	4,0
Arabinose	69/329	20,9	Lysine	16/118	13,6
Xylose	63/317	19,8	Urée	103/447	23,0
Rhamnose	27/178	15,2	Cellulose	0/157	0
Galactose	50/114	43,8	Chitine	5/164	3,0
Lévulose	70/117	59,8	Lait	42/192	21,9
Mannose	64/116	55,2			

Tableau 14.-Inventaire récapitulatif des tests positifs.

6. GROUPES BACTERIENS SPECIAUX

6.1. BACTERIES AUTOTROPHES

6.1.1. CHIMIOSYNTHÈSE BACTERIENNE	265
6.1.2. PHOTOSYNTHÈSE BACTERIENNE	266

C'est par le truchement des bactéries photosynthétiques que WINOGRADSKY (1887) découvrit la vie microbienne autotrophe. Parmi les bactéries autotrophes - c'est-à-dire celles qui se contentent de composés inorganiques simples -, nous devons distinguer les bactéries chimiosynthétiques et les bactéries photosynthétiques.

6.1.1. Chimiosynthèse bactérienne

Les bactéries chimiosynthétiques, qui peuvent se développer à l'obscurité, obtiennent, par l'oxydation des substances minérales, l'énergie nécessaire à la réalisation de leurs synthèses cellulaires.

Ces bactéries sont sulfo-oxydantes, telles les *Thiobacillus* nitrifiantes, telles les *Nitrosomas* qui peuvent contribuer à apporter annuellement jusqu'à 200 kg de nitrates par Ha de terrain; ferriques, oxhydriques etc... citons encore les méthanobactéries qui oxydent le "gaz des marais" produit par la désintégration bactérienne de la cellulose, en eau et CO_2 .

Dans la plupart des cas, l'accepteur d'électrons sera l'oxygène. Les réactions d'oxydation de ces germes produisent moins d'A.T.P. que celles des hétérotrophes et leurs synthèses cellulaires sont donc plus faibles.

De ce fait, les autotrophes sont moins compétitifs pour les nutriments disponibles mais, par contre, ils survivent plus facilement dans la nature.

Nous n'avons malheureusement pas pu nous attarder à la discrimination des divers types de chimiotrophes. Le sujet est suffisamment vaste que pour faire l'objet d'un travail séparé. Leur rôle dans l'économie générale des sables ne fait aucun doute et leur présence est favorisée par la légère aération du milieu.

Nous espérons compléter ultérieurement notre travail par une étude sur ce sujet particulièrement prometteur.

6.1.2. Photosynthèse bactérienne

6.1.2.1. Généralités

Nous ne nous attarderons pas non plus sur les processus de photosynthèse bactérienne qui sont d'intérêt biochimique plutôt qu'écologique.

Rappelons simplement que les différences majeures entre les plantes vertes et les bactéries, en ce qui concerne la photosynthèse, résident dans la structure et la localisation des plastes, dans la longueur d'onde d'absorption et dans le mode de photophosphorylation.

En outre, les bactéries ne dégagent pas d'oxygène comme produit final de photosynthèse. Les caroténoïdes bactériens jouant un rôle dans le mécanisme, sont tous aliphatiques.

Les bactéries photosynthétiques sont divisées en 3 groupes principaux :

- a) les bactéries sulfureuses rouges ou Thiorodacées
- b) les bactéries non sulfureuses rouges ou Athiorodacées
- c) les bactéries sulfureuses vertes ou Chlorobactériales.

Les premiers et troisième groupes sont strictement anaérobies et dépendants de la luminosité tout autant que d'un apport d' H_2S , tandis que le deuxième groupe sera hétérotrophe aérobie à l'obscurité si on lui fournit des nutriments organiques.

Les substrats organiques sont toujours utilisés comme donneurs d'énergie tandis que le CO_2 livre seul le carbone nécessaire aux synthèses cellulaires.

De nombreux auteurs se sont attachés à l'étude de ces organismes, encore que beaucoup de problèmes restent à élucider.

VAN NIEL (1931) a singulièrement contribué à la compréhension de leur morphologie et de leur physiologie.

D'une manière générale, ces bactéries se retrouvent plutôt dans les eaux, le sol n'étant pas favorable à la fois à la lumière et à l'anaérobiose. Leur rôle de producteurs primaires ne doit pas être sous-estimé. OVERBERG (1974) estime que leur part, dans l'activité photosynthétique totale, est, dans certains lacs, de 3 à 13 % et peut s'élever exceptionnellement à 25 %.

KAISER (1966) montre que les Thiorhodaceae se multiplient dans l'eau de mer sous des conditions écologiques identiques à celles des eaux douces, que les Chlorobacteriaceae se rencontrent indifféremment dans les eaux artificiellement polluées ou non, douces ou salées, que les Athiorhodaceae ont une aire de répartition encore plus large que les précédentes.

MATHERON et BOULAIGUE (1972) ont isolé 15 souches de divers milieux marins. Ils ont constaté que les Thiorhodaceae assimilent mieux les substrats et en photo-oxydent une plus grande quantité que ne le font les souches dulçaquicoles.

Le rôle écologique des bactéries photosynthétiques, selon KAISER (1966), est des plus importants dans les biotopes anaérobies; elles seules vont terminer la dégradation des molécules complexes entreprise par les anaérobies hétérotrophes. Le substrat initial peut être complètement utilisé avec l'énergie lumineuse.

Elles jouent aussi le rôle d'épurateur quand on considère que les catabolites des anaérobies primaires, accumulés en grandes quantités, sont toxiques pour de nombreux organismes. Elles constituent une sorte de barrière contre la pollution des biotopes aqueux, un filtre qui bloque la diffusion d' H_2S dans les couches supérieures.

Leur présence dans les sédiments littoraux marins ne semble pas avoir été recherchée. Toutefois, WINOGRADSKY (1947) estime qu'il y a au départ, dans chaque vase, quelques cellules de bactéries photosynthétiques et qu'il suffit d'un dégagement d' H_2S , même discret, pour qu'elles reprennent leur activité. Voulant vérifier cette affirmation pour le biotope qui nous intéresse, nous avons repris dans les grandes lignes la technique de mise en évidence préconisée par cet auteur.

6.1.2.2. Technique

Dans un récipient en verre, d'une contenance de 250 ml, préalablement stérilisé, nous avons placé 1/3 de sable et 1/3 d'eau du milieu considéré. Nous avons complété ensuite avec une partie du milieu d'enrichissement préconisé par WHITTENBURY (1971), à savoir :

-Mg SO ₄	7 H ₂ O	0,01 g
-KH ₂ PO ₄		0,1 g
-NH ₄ Cl		0,05 g
-Lactate de Na		0,5 g

Au moyen d'une pipette pasteur reliée à une bonbonne d'azote, nous avons fait barbotter du gaz dans le flacon, durant 5 min. Cette opération permettait d'éliminer l'excès d'oxygène gazeux. L'anaérobiose était maintenue du fait du remplissage complet du flacon sur lequel était simplement posée une plaque de verre : ceci, afin de permettre éventuellement l'échappement d'un excès de gaz.

Le pH de départ était proche de la neutralité tandis que la température était celle du laboratoire.

Le flacon était exposé à 60 cm de distance d'une lampe au tungsten de 60 watts.

6.1.2.3. Résultats

Quatre échantillons dont un récolté en été et trois en automne, ont été traités de la manière décrite dans le paragraphe précédent :

Ils consistent en :

- un sable propre recueilli à 10 cm de profondeur,
- un sable noir recueilli à 10 cm de profondeur,
- un sable propre recueilli à 20 cm de profondeur,
- un sable propre recueilli à 30 cm de profondeur.

Le développement s'est déroulé de la manière suivante : dès le deuxième jour, l'eau surnageante et le sable sont devenus noirs.

L'examen microscopique du milieu révéla l'abondance des bactéries sulfato-réductrices reconnaissables à leur teinte, indice de présence intra-cellulaire de sulfure de fer.

Le troisième jour, est apparue à l'interface sable/verre, une tâche rougeâtre. Celle-ci s'est développée rapidement au point que le cinquième jour, la totalité de l'eau surnageante était devenue rouge.

L'examen microscopique révéla, à ce stade, l'abondance de grandes bactéries mobiles contenant des granules de soufre.

De nombreux granules réfringeants apparaissent en dehors des corps bactériens.

Ces granules pourraient provenir de la lyse des bactéries ou encore représenter du soufre excrété.

Les caractères bactériens en provenance de trois des cultures correspondent aux descriptions du genre *Chromatium*. La quatrième culture, en provenance du sable noir, s'est développée avec trois jours de retard sur les *Chromatium*. Elle a permis de mettre en évidence des bactéries sphériques, souvent liées par paires et dont une partie seulement était mobile. Elles répondent aux descriptions du genre *Thiocystis*.

L'analyse spectrophotométrique de ces deux genres, réalisée sur un appareil Beckman, au départ de suspensions de cellules vivantes, a révélé deux pics d'absorption des bactériochlorophylles, dans les longueurs d'onde de 750 à 800 nm et de 800 à 850 nm.

6.1.2.4. Discussion

Les cultures ont permis la mise en évidence rapide de Thiorhodaceae présentes dans le sable.

Si la température, le pH, l'intensité lumineuse et les nutriments présents ont favorisé la sélection de deux genres, il n'est pas exclu que d'autres bactéries photosynthétiques se seraient développées dans des conditions différentes.

Il est évident, d'autre part, que la méthode utilisée ne permet ni dénombrement ni détermination spécifique; encore que c'eut été réalisable sans trop de difficultés, ces expériences auraient dépassé le cadre de nos travaux.

6.2. BACTERIES FIXATRICES D'AZOTE ATMOSPHERIQUE

6.2.1. Généralités

La fixation d'azote moléculaire par les bactéries est un phénomène courant dans les sols. Il contribue à enrichir les terres en azote organique.

Les organismes responsables de ce processus sont des bactéries symbiotiques de légumineuses, genre *Rhizobium*; des non-symbiotiques aérobies, genre *Azotobacter*; des anaérobies, genre *Clostridium* et quelques photosynthétiques. Certaines de ces espèces, potentiellement fixatrices, s'en dispenseront si elles ont à leur disposition de l'azote combiné.

L'enrichissement des eaux douces en azote est principalement le fait des algues bleues. OVERBECK (1974) considère que les bactéries fixatrices y sont peu représentées mais se retrouvent plus abondamment dans les sédiments littoraux lacustres.

FERGUSON-WOOD (1967) qui a étudié la biologie des estuaires, n'a pu mettre avec certitude les *Azotobacter* en évidence. Par contre, BROOKS et al (1971) ont calculé le taux de fixation d'azote dans un estuaire de Floride et l'ont évalué à 0,64- 0,60 µg de N/g.h. dans la couche d'eau superficielle. Ce taux était beaucoup plus faible dans les sédiments.

KEUTNER fut le premier à en découvrir en mer, déjà en 1905. Beaucoup d'autres auteurs les y ont remarqués par après, notamment à la surface des algues.

ZOBELL (1946) insiste sur le fait que la fixation d'azote requiert une quantité considérable d'énergie et que les fixateurs ne peuvent être fonctionnels qu'en présence de matière organique rapidement assimilable. Il suppose donc que, sans enrichissement, l'eau de mer est un mauvais support de croissance.

En 1971, FUSTEC-MATHON fait des observations sur quelques couches d'*Azotobacter* isolées de sédiments du littoral atlantique. Il conclut que les *Azotobacter* peuvent s'adapter à des différences de salinité, de température et d'humidité.

En 1974, WERNER et al. entreprennent une étude en vue de déterminer l'importance de la fixation d'azote dans un écosystème marin contrôlé, d'isoler et de caractériser les bactéries

anaérobies facultatives capables d'effectuer cette fixation dans les zones de transition entre les eaux de surface aérobies et le milieu à prédominance anaérobie des sédiments.

Parmi la famille des Azotobacteriaceae, un seul genre est reconnu par le "Bergery's Manual". PREVOT (1961) les classe en 2 genres : le genre *Azotobacter*, à forme adulte cocoïde, pour lequel il décrit 4 espèces et le genre *Beijerinckia*, à forme de bâtonnet, pour lequel il décrit 2 espèces.

Un nouveau genre, *Dexxia*, a été proposé par JENSEN et al en 1960.

DE LEY et PARK (1966) qui analysent le pourcentage en bases nucléiques, signalent que le genre *Azotobacter* est génétiquement hétérogène.

Ils suggèrent de n'y classer que les espèces *chroococcum*, *beijerincki* et *vinelandii*.

Ces bactéries sont gram-, ont un cycle vital complexe, ne forment pas de spores mais, par contre, peuvent s'enkyster et survivre de longues périodes sans nutriments.

6.2.2. Technique

Dans le but de vérifier la fixation aérobie d'azote atmosphérique par les bactéries dans les sables littoraux, nous avons placé quelques grammes de sable dans des flacons contenant 200 ml d'une solution dépourvue d'azote combiné, mais contenant une substance énergétique (solution saline standard de WINOGRADSKY à laquelle ont été ajoutés 10 g de glucose/l) selon la technique de POCHON et TARDIEUX (1962).

Le flacon est obturé par un bouchon d'ouate stérile et abandonné à la température du laboratoire.

6.2.3. Résultats

Huit sables ont été recueillis à divers endroits et à diverses profondeurs de la plage.

Tous ont donné des résultats positifs, c'est-à-dire un développement de fixateurs d'azote, après un laps de temps variant de 1 à 5 semaines.

Les 2 flacons contenant du sable prélevé à une profondeur dépassant 1 m, ont mis le plus long temps à se développer.

Ces cultures étaient incolores et se développaient principalement à la surface du milieu.

Nous n'avons tenté ni le dénombrement ni la détermination spécifique de ces germes.

Nous avons photographié l'une de ces espèces qui s'est développée au départ d'un sable prélevé à 1,5 m de profondeur (au niveau de la nappe d'eau) et qui, cependant, est aérobie strict, se développant en pellicule à la surface du liquide.

Ces bactéries, de forme cocoïde, ont un diamètre moyen de 3 à 4 μm ; elles sont immobiles, entourées d'une substance muqueuse et l'on peut remarquer de nombreuses formes en voie de division. La coloration de gram met en évidence l'épaisseur de leur paroi.

6.2.4. Discussion

Les bactéries fixatrices d'azote sont évidemment présentes partout dans les sables littoraux étudiés, même au niveau de la nappe aquifère souterraine.

Leur mise en évidence ne prouve rien quant à leur abondance, puisque, théoriquement, la croissance peut se faire au départ d'un seul cyste. Néanmoins, leur présence dans 8 échantillons de quelques grammes de sable est un assez bon critère de leur répartition.

6.3. LES BACTERIES ANAEROBIES

6.3.1. Généralités

Les bactéries anaérobies strictes sont des germes appartenant à un grand nombre de genres différents mais se distinguant par leur incapacité à se développer en présence d'oxygène. Cette incapacité provient d'une absence de catalase, enzyme servant à détruire l'eau oxygénée se formant dans les cellules lors des réactions d'oxydation.

Ne disposant pas d'oxygène, elles utilisent un composé minéral oxydé en tant qu'accepteur final d'électrons.

En fait, il a été démontré (KLIGLER et GUGGENHEIM, 1938) que certains anaérobies stricts croissent en présence d'oxygène à condition que le potentiel d'oxydo-réduction soit suffisamment bas. A titre exemplatif, 15 espèces d'anaérobies stricts étudiés par REED et ORR (1943) avaient une croissance optimale pour un Eh de -200 mV. Il est intéressant de signaler que certaines espèces de *Desulfovibrio* supportent des milieux à Eh de -550 mV pour un pH de 7.

Les anaérobies sont très répandus dans la nature et certaines espèces ont un pouvoir pathogène considérable, encore qu'elles ne soient jamais à l'origine de maladies contagieuses ou épidémiques.

ZOBELL (1946) a trouvé des bactéries anaérobies dans la plupart des sédiments marins et dans beaucoup d'échantillons d'eau de mer.

En 1955, BRISOU fait le recensement et le classement, dans la taxinomie française, des espèces anaérobies les plus fréquemment rencontrées dans le milieu marin.

En 1949, SENEZ publie une étude sur les bactéries anaérobies des sédiments marins. Il considère ces sédiments, du point de vue bactériologique, comme un milieu organique anaérobie dont les constituants sont relativement stables et résistants à la dégradation microbienne.

D'une manière générale, il constate que les anaérobies sont moins nombreux que les aérobies et que leur répartition dans les sédiments dépend étroitement de la profondeur, la densité devenant très faible au-delà de 60 cm.

Il emprunte à ZOBELL et ANDERSON (1936), les chiffres suivants:

Profondeur du sédiment en cm	anaérobies par g.	aérobies par g.	Rapport anaérobies/aérobies	Oxygène absorbé par mg	Eh en volts
0-3....	1.160.000	74.000.000	1/64	2,8	-0,12
4-6....	14.000	314.000	1/21	1,3	-0,29
14-16...	8.900	56.000	1/6	0,6	-0,37
24-26...	3.100	10.400	1/3	0,7	-0,32
44-46...	5.700	28.100	1/5	0,3	-0,37
66-68...	2.300	4.200	1/2	0,4	-0,34

Répartition des bactéries dans un échantillon de sédiment marin.
(ZOBELL et ANDERSON, 1936)

Les conditions rencontrées dans les sédiments littoraux étudiés ici sont vraisemblablement différentes des conditions sous-marines, tout au moins en ce qui concerne la concentration en oxygène dissous et les propriétés réductrices du milieu. Nous avons discuté ce problème dans le chapitre consacré aux paramètres physico-chimiques. Il est probable que ces raisons expliquent en partie les nombres peu élevés que nous avons pu déceler, quoique nous ne prétendions pas mettre en évidence le nombre total d'anaérobies présents.

6.3.2. Techniques

Le choix du milieu nutritif et la réalisation d'une anaérobiose convenable présentent de grandes difficultés qui expliquent sans doute en partie le petit nombre de recherches effectuées dans le sens d'une numération totale (SENEZ 1949). De plus, comme le rappelle cet auteur, les numérations indirectes par culture, donnent des chiffres très inférieurs à ceux des populations réelles et permettent difficilement la distinction entre les anaérobies stricts et les anaérobies facultatifs.

Dans un premier essai, nous avons comparé le nombre obtenu, par inclusion et par étalement, sur milieu VL classique, sur marine agar et sur gélose à l'eau interstitielle. Ce dernier milieu ayant donné les résultats les plus significatifs, nous nous sommes tenue à la méthode d'inclusion en gélose préparée avec de l'eau dite "extrait de sable".

Une goutte d'eau interstitielle est incluse dans 10 ml de gélose "extrait de sable." Les boîtes sont incubées à 20°C dans une jarre anaérobie de type "Gaspak" dont le principe est le suivant : un générateur produit de l'hydrogène qui se combine avec l'oxygène présent pour produire de l'eau. Un générateur de CO₂ maintient l'atmosphère gazeuse indispensable à certains anaérobies. Un indicateur au bleu de méthylène permet de vérifier l'absence d'oxygène (BREWER, 1939).

6.3.3. Résultats

Sur 50 cultures, 24 ont donné des résultats acceptables. Les autres ne se sont pas développées ou ont été impossibles à dénombrer par suite d'une croissance de germes envahissants.

N°	Profondeur /cm	octobre 1973	novembre 1973	février 1974	Avril 1974
1	150	150	8.060	-	930
2	100	-	3.890	1.120	650
3	60	540	980	170	460
4	50	840	920	85	200
5	40	845	200	20	110
6	30	-	300	125	340
7	20	60	-	80	630

Tableau 15. - Nombre d'anaérobies par ml d'eau interstitielle.

6.3.4. Discussion

L'aération des sables et la circulation de l'eau entraînent certainement des conditions et donc une répartition différentes de ce qu'elles sont dans les sédiments marins.

Les fortes variations dans les chiffres peuvent aussi être imputables à des conditions locales de microhabitat.

Ces résultats épars sont difficilement interprétables et doivent plutôt être considérés comme une première prospection dans ce domaine.

6.3.5. Les bactéries sulfato-réductrices

Parmi les anaérobies stricts, nous avons prêté une attention particulière aux bactéries sulfato-réductrices.

Au point de vue médical, elles sont dépistées par les hygiénistes pour le danger potentiel qu'elles présentent.

Au point de vue géochimique, elles jouent un des rôles les plus importants par leur large répartition, leur rôle dans la formation des sulfures et dans le cycle du fer. Elles interviennent également dans la formation du pétrole et sont un maillon préliminaire indispensable au métabolisme des bactéries photosynthétiques.

Au point de vue biologique, elles déterminent des conditions fatales pour les algues et les animaux, encore qu'un équilibre puisse s'établir par la présence voisine simultanée de bactéries sulfo-oxydantes et photosynthétiques.

Sur notre côte, des coupes de la zone infralittorale montrent fréquemment des strates noirâtres, indices de présence de sulfure de fer. Ceci est particulièrement vrai après l'été, lorsque des matières organiques ont échoué sur les plages, s'y sont accumulées et on été partiellement ensevelies dans le sable. L'été 1973, notamment, vit s'accumuler sur la plage un banc de 20 à 40 cm d'épaisseur, composé d'organismes morts, principalement des bryozoaires, des actinies et des polychètes. Après une rapide fermentation aérobie, s'installent des conditions d'anaérobiose qui voient la prolifération intense des bactéries sulfato-ou sulfito-réductrices, ainsi que de celles pratiquant la désulfuration des thio-amino-acides.

Ces processus entraînent une forte production d' H_2S , suivie d'une formation de sulfure de fer lorsque des sels de fer solubles se trouvent disponibles dans le milieu.

En récoltant des sables noirâtres, additionnés ensuite d'eau de mer stérile, il nous a été facile d'obtenir la prolifération de ces bactéries. Ces cultures ont été mises à profit pour la croissance des bactéries photosynthétiques. Les techniques sont décrites dans le chapitre consacré à la photosynthèse.

Nous pouvons reconnaître les bactéries sulfato-réductrices à leur couleur noire. Le sulfure de fer peut, en effet, se former dans le corps bactérien : les réductases étant des endoenzymes.

Il est à noter que d'autres types de bactéries peuvent utiliser les sulfates solubles à seule fin d'incorporer l' H_2S dans la chaîne des réactions énergétiques et synthétiques, auquel cas, bien entendu, aucun sulfure de fer n'est produit. D'autres encore, ainsi que nous le faisions remarquer plus haut, oxydent l' H_2S en soufre colloïdal incolore qui se dépose dans les cellules.

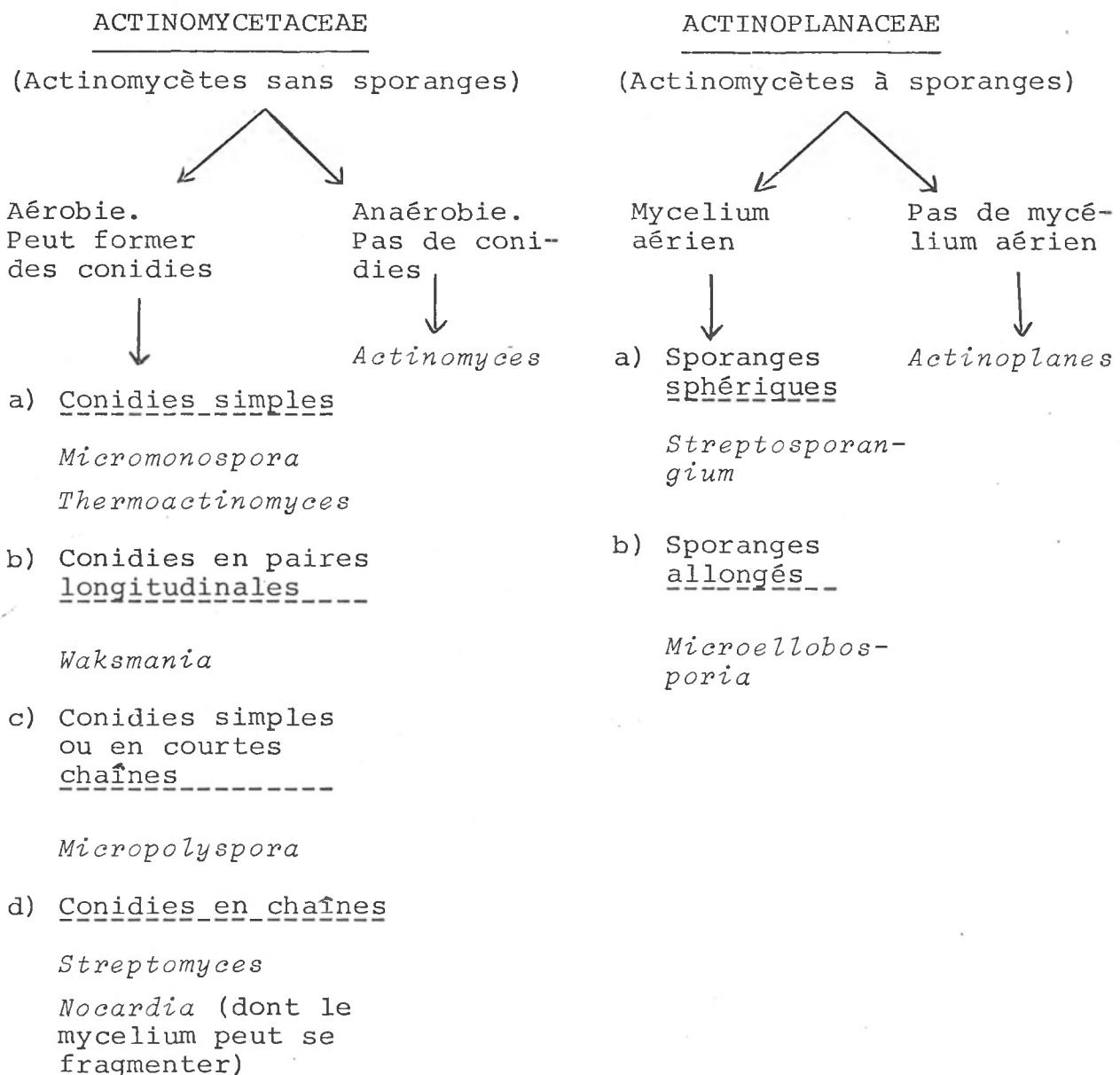
C'est le cas des Thiobactériales.

La présence des sulfato-réducteurs et la formation subséquente d'hydrogène sulfuré concordent avec la rareté de l'oxygène dissous, observée en zone infralittorale.

6.4. ACTINOMYCETES

Les Actinomycètes présentent de grandes affinités avec les champignons. Ils sont cependant typiquement bactériens par leurs particularités propres aux Prokaryotes, et se distinguent à première vue par leur diamètre, largement inférieur à celui des moisissures.

LECHEVALIER (1964) en donne une classification très claire qui peut être résumée de la manière suivante :



Largement représentés dans la nature, on les trouve plus abondamment dans les sols. Ils peuvent se contenter d'un substrat très pauvre.

ZOBELL (1946) a démontré que, dans les sédiments marins, ils contribuent à l'oxydation des hydrocarbures comme à celle de nombreux substrats organiques.

Les ayant rencontrés plusieurs fois dans les sables, nous avons simplement voulu, ici, évoquer leur rôle dans le remaniement des sols.

La description de certains d'entre eux est donnée dans la liste des résultats spécifiques (Réf. Par. 5.5.2.14 et 5.5.2.15).

7. CONCLUSION GENERALE

7.1. Le biotope

Rappelons tout d'abord que la plage étudiée est constituée d'un sable fin dont les grains ont un diamètre moyen de 200 µm. En profondeur, on y rencontre une eau interstitielle qui subit un déplacement vertical sous l'effet des marées.

Dans le plan horizontal, cette eau interstitielle est modifiée de la zone supralittorale vers la zone infralittorale, de la manière suivante :

- baisse de la teneur en oxygène dissous,
- baisse du pH,
- baisse des nitrates,
- baisse de la température en hiver,
- élévation de la température en été.

Le fait que nous ayons trouvé un plus grand nombre de bactéries aérobies en zone supralittorale, corrobore certaines de ces observations.

Vers la zone infralittorale, par contre, l'anaérobiose est favorisée par une plus longue émersion des sables sous l'effet des marées. Ceci est confirmé par une plus faible concentration ou même par l'absence d'oxygène dissous ainsi que par l'abaissement du pH dû, probablement, à l'abondante production d' H_2S et d'autres petites molécules résultant du métabolisme des bactéries réductrices.

La teneur en NaCl oscille de 22,5 à 33 % sous l'influence des pluies, de l'assèchement, des apports d'origine phréatique, mais aussi de la mer qui subit à cet endroit l'influence des eaux douces amenées par le chenal de Nieuwpoort. Toutefois, nous verrons plus loin que la flore microbienne autochtone est parfaitement adaptée à ce genre de fluctuations.

La teneur moyenne de ces eaux en phosphates correspond au double de celles des eaux littorales et à plus de 10 fois les valeurs rencontrées en haute mer.

Les nitrites, par contre, y sont du même ordre de grandeur qu'en mer. Les nitrates sont plus abondants en zone supralittorale que dans la partie inférieure de la plage. Ceci peut être valablement mis en parallèle avec les besoins de oxygène des bactéries

autotrophes qui oxydent les nitrites en nitrates.

En zone anaérobie, on constate la réaction inverse, les nitrates, en leur qualité d'accepteurs d'électrons, étant inévitablement réduits.

Le rapport C/N moyen des matières organiques particulaires est de 15,47. Ce chiffre, plus élevé que celui rencontré pour l'eau de mer, peut paraître étonnant pour un milieu contenant apparemment plus d'organismes animaux que végétaux. Il faut cependant remarquer que nous n'avons jamais trouvé de bactéries cellulolytiques alors que des chitinolytiques sont présentes dans le milieu.

L'originalité de ce biotope est dûe, en grande partie, aux propriétés adsorbantes des grains de sables et des matières humiques qui fixent les métaux et divers oligo-éléments, les rendant ainsi disponibles pour les microorganismes. Le fer y est représenté à raison de 5 µg/g d'eau interstitielle alors qu'il est à peine détectable en mer.

7.2. La flore

La flore de l'eau interstitielle est constituée principalement de Diatomées pennées, de petites tailles et de formes effilées.

Elles sont mobiles et capables d'hétérotrophie.

Elles sont la proie des Ciliés phytophages et, après leur mort, des bactéries.

7.3. La faune métazoaire

Cette faune est principalement représentée par les Nématodes.

Nous n'avons pas élucidé leur mode de nutrition mais nous savons qu'ils ont à leur disposition des bactéries, des Ciliés, des

levures, des champignons et, éventuellement, des Diatomées. Il supportent l'anaérobiose, encore qu'ils aient probablement une répartition spécifique en fonction de la concentration en oxygène dissous.

7.4. La faune protozoaire

Les protozoaires y sont incontestablement les animaux les plus abondants. Les foraminifères, qui représentent en quelque sorte les Thécamoebiens marins, ont une taille qui leur permet d'être facilement déplacés entre les grains de sable, mais leur morphologie ne varie guère.

Ils constituent ce que DELAMARE-DEBOUTEVILLE appelle une "forme figée".

Les Flagellés les plus fréquents sont subsphériques, avec un diamètre de 5 à 8 μm . Ils se déplacent activement et leur taux de multiplication est tel qu'on les retrouve en abondance dès que le milieu est un peu saprobe et bien pourvu en bactéries.

Les Ciliés illustrent une des plus belles adaptations du monde animal à un milieu poreux. Ils présentent un éventail de formes exceptionnel. Allongés, nématomorphes, contractiles, rubannés, ils se moulent sur les grains de sable pour y lamper les bactéries ou, encore, ils se glissent entre les grains en quête de Diatomées, de levures, de Flagellés ou de congénères Ciliés plus petits. Ils sont inféodés à cette forme de vie microporale à un point tel que le contact des grains de sable est nécessaire à leur intégrité cellulaire. Cependant, des formes euryporales moins spécialisées se prêtent mieux aux changements de milieux. Elles consistent surtout en espèces microphages qui se déplacent et se multiplient avec rapidité lorsqu'un apport local de matières organiques fait s'accroître le nombre de bactéries.

7.5. La flore bactérienne

Ainsi qu'il est de règle dans un écosystème équilibré, des interactions existent donc entre le milieu et toutes les formes de vie déjà citées.

De nombreuses espèces se nourrissent de bactéries et celles-ci, à leur tour, décomposent les organismes morts, soit en reconstruisant de la matière vivante sous forme bactérienne, soit en scindant les substances complexes en molécules plus petites qui seront accessibles à d'autres organismes, soit en reminéralisant les molécules qui seront ainsi disponibles pour les producteurs primaires.

Nous avons constaté, en effet, que tous les types de bactéries sont présents dans le milieu interstitiel, chacun remplissant sa fonction dans la communauté :

les anaérobies qui participent à la dégradation des matières organiques dans les milieux dépourvus d'oxygène. Prenant,

en tant qu'accepteur final d'électron, une molécule oxydée, elles sont de ce fait réductrices telles les sulfato-réductrices qui produisent en grande quantité l'hydrogène sulfuré;

les photosynthétiques qui utilisent ce même hydrogène sulfuré comme source d'énergie;

les chimiotrophes qui participent à la production primaire en empruntant l'énergie aux substances minérales qu'elles oxydent;

les fixateurs d'azote atmosphérique qui contribuent, de cette manière, à l'apport d'un élément indispensable à la croissance et quelquefois limitant dans les milieux oligotrophes;

les actinomycètes dont les filaments de type mycélien per-

forment, dégradent et solubilisent de nombreuses substances

Seules les bactéries aérobies hétérotrophes mésophiles ont été soumises ici à une détermination spécifique. Ce groupe est présent partout mais il est plus abondant en zone mieux aérée. L'examen des résultats d'isolement et d'identification de 518 souches pures nous autorise à émettre les considérations exposées dans les paragraphes suivants :

7.5.1. Répartition des bactéries par groupes physiologiques

Nous avons développé au paragraphe 5.5.1. les avantages de la répartition des bactéries en groupes physiologiques. Rappelons qu'il s'agit d'un moyen rationnel d'utilisation de la systématique existante, qui fut mis au point par BRISOU en 1962. Les bactéries y sont classées selon leur parenté biochimique, ce qui permet en même temps des observations sur les fonctions qu'elles peuvent exercer dans l'écosystème. Le schéma d'utilisation est présenté au tableau 12, page 144.

Le groupe B₁b (gélatine+, nitrate-, glucose+, lactose-) est représenté à raison de 37,1 % contre 14,3 % pour le groupe D₂, 12,5 % pour le groupe B₂, 10,4 % pour le groupe A₁b, les autres groupes étant représentés dans un très faible pourcentage (< 5 %) ainsi que le montre le tableau 13, page 261. En d'autres termes, la majorité des bactéries de ce milieu est protéolytique et acidifie le glucose.

Nous pouvons compléter nos informations sur leurs processus enzymatiques par l'examen du tableau 14 (page 262) qui présente un inventaire récapitulatif de tous les tests positifs.

Les nutrients les plus recherchés sont, par ordre d'importance:

la gélatine	69 %,
le maltose	67 %,
le glucose	65 %,
le lévulose	59,8 %,
le tween	57,6 %,
le saccharose	57,5 %,
le mannose	55,2 %,
le mannitol	52,8 %.

Ainsi donc, le groupe prédominant participe à la dégradation des matières protéiques tandis qu'il tire son énergie de certains glucides et d'un alcool préférentiels, à l'exclusion presque totale du lactose, de l'adonitol et du dulcitol.

7.5.2. Répartition des bactéries par genre

Sur 2700 souches isolées de la mer, DENIS (1971) a dénombré 28 % de *Phytobacterium*, 17 % de *Micrococcus*, 17 % d'*Achromobacter*, 6 % de *Vibrio* et les autres genres dans une proportion < 5 %. ZOBELL (1946) considère comme prédominants les genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* et *Bacterium*.

Chacun s'accorde à reconnaître que les *Bacillus* sont rares en mer.

La distribution dans les sables littoraux n'a rien de comparable. L'examen du tableau 13 (page 261) nous indique la prédominance très nette des genres *Bacillus* (37,5 %) et *Phytobacterium* (26 %). Le groupe suivant est représenté par *Flavobacterium* avec 12,4 %, les autres genres n'étant présents que dans une proportion < à 5 %.

Nous nous attacherons, dans cette conclusion, à l'analyse des 2 espèces dominantes.

Le genre *Phytobacterium*, nous l'avons mentionné au paragraphe 5.5.2.5., comprend surtout des espèces phytopathogènes.

En mer, BRISOU et al (1971) ont isolé 39,5 % de bactéries de ce genre. Parmi celles-ci, 51 % provenaient des eaux de haute mer, 23 %, des eaux littorales et le reste du plancton et des fruits de mer.

GUILLON (1966) qui a établit un bilan des souches isolées du milieu marin, note une prédominance des groupes A₁a, A₁b, C₁a, C₁b, D₁b, et D₂.

Dans nos relevés, ce sont les groupes B₂ et D₂ qui constituent la majorité (gélatine+ ou -, nitrate-, glucose-, lactose-). Les glucides qu'ils utilisent de préférence sont le maltose, le galactose, le mannose, le lévulose, le saccharose et l'amidon. Ils sont souvent halophiles préférentiels et résistent à la pénicilline. Ils n'attaquent ni la cellulose ni la chitine. Si nous excluons les espèces trouvées en mer, dans le chenal ou en surface du sable, le taux de 26 % tombe à 18,5 %.

Cette chute souligne, de façon plus significative encore, l'importance des *Bacillus* qui, pour leur part, représentent 37,5 % du total et proviennent presque exclusivement d'une flore interstitielle.

Nous sommes ici en présence de germes qui caractérisent vraiment la communauté microbienne.

Remarquablement adaptés à un milieu qui subit des assèchements périodiques, ils ont la faculté de sporuler si leur environnement devient défavorable.

Ils peuvent généralement supporter l'anaérobiose (quoique les formes végétatives soient de préférence aérobies), des températures de 7°C, 37°C et, parfois, 56°C, une teneur en NaCl de 7 % voire 10 %.

Ils supportent moins facilement l'eau douce qu'ils ne reconnaissent d'ailleurs jamais dans leur biotope.

Plusieurs caractères les différencient nettement des *Bacillus* marins et, plus encore, des *Bacillus* du sol et des eaux douces.

Il n'est, pour s'en convaincre, que de comparer aux 120 *Bacillus* marins isolés par DENIS (1971), parmi 2700 souches.

Si nous mettons en parallèle les résultats de ce chercheur et les nôtres, nous pouvons visualiser plus facilement la différence :

	<i>Bacillus marin</i>	<i>Bacillus du sable littoral</i>
Fréquence	5 % en haute mer 8 % en eau côtière	37,5 %
Souche dominante parmi les <i>Bacillus</i>	écotypes marins de <i>B. subtilis</i> : 17 % puis <i>B. cereus</i> et variantes	<i>B. sp. orangé</i> : 62,4 %
Groupe dominant	A ₁ ^b	B ₁ ^b
Exigence en NaCl	euryhalin	halophile
Chromogénèse	34 %	64,4 %
Oxydase	45 %	20 %
Nitrate réductase	62 %	21 %
Gélatinase	89 %	94,8 %
Acidification du glucose	83 %	96,4 %
Acidification du lactose	22 %	3,6 %
Indologénèse	10 %	0 %
Uréase	24 %	12,9 %
Tween estérase	45 %	62,2 %
H ₂ S	50 %	12,9 %
Chitinase	3 %	5,4 %

En outre, les préférences glucidiques de nos souches vont au saccharose (89,2 %), au maltose (84,6 %), au mannitol (83,8 %) et au glycérol (80,6 %). Ces souches n'élaborent pas de produits réducteurs, n'utilisent ni acides organiques, ni adonitol, ni glycérol, ni cellulose.

Elles nous apparaissent ainsi nettement différentes des *Bacillus* habituels et sont probablement inféodées à cet habitat particulier qui permit à CHAPPUIS (1953), à DELAMARE-DEBOUTTEVILLE (1960) et à bien d'autres, la découverte d'une faune étrange qui n'avait

jamais été rencontrée que dans les puits ou dans l'eau profonde de certaines grottes.

DELAMARE-DEBOUTTEVILLE (1960) cite le cas des Microparasellides dont les espèces rencontrées dans les eaux souterraines continentales sont, dans certains cas, isolées des rivages marins depuis le tertiaire et profondément semblables à celles que nous connaissons au niveau des rivages actuels.

Il considère que les eaux souterraines continentales des nappes profondes sont peuplées essentiellement par de très vieilles lignées littorales, au sens strict du terme, qui sont encore représentées dans les milieux marins interstitiels.

"En ce sens, ajoute-t-il, le peuplement des nappes souterraines continentales profondes continue, encore de nos jours, à plusieurs centaines de mètres sous nos pieds, presque sans aucune modification, la vie littorale de très anciens rivages maritimes."

Ces observations si intéressantes méritent d'être soulignées et, surtout, d'être vérifiées au niveau bactériologique.

Pour en revenir aux caractères des *Bacillus* sur lesquels notre étude a porté, il nous faut encore insister sur le fait que, des 194 souches isolées, 121 d'entre elles (soit 62,4 %) appartiennent à une même espèce (ou à des variantes d'une même espèce) tout-à-fait originale et, de ce fait, impossible à classer dans la systématique existante. Elle est remarquablement adaptée au milieu interstitiel.

En voici la diagnose :

- *Bacillus nv.sp.* isolé de la profondeur des sables littoraux;
- bâtonnets isolés ou en paires, rarement en chaînes;
- longueur 3 à 6 μm , largeur 0,7 μm ;
- gram négatif;
- spore ovoïde non déformante;
- pigment orangé non hydrosoluble;

- halophile préférentiel;
- supportant 10 % de NaCl;
- ne pouvant croître sur milieu liquide à base d'eau douce.
Sa croissance est possible, quoique beaucoup plus lente,
sur milieu à l'eau douce solide (gélose);
- utilisant toujours les "Hydrates de carbone" suivants :
glucose, maltose, mannose, lévulose, mannitol et glycérol;
- n'utilisant jamais les "Hydrates de carbone" suivants :
rhamnose, lactose, inuline, adonitol, dulcitol et inositol;
- n'utilisant ni le citrate, ni l'alginate, ni l'urée;
- ne décarboxylant ni lalanine, ni la lysine;
- ne produisant jamais d'indole ni de produits réducteurs;
- ne pratiquant ni la cellulolyse, ni la chitinolyse.

Les autres potentialités enzymatiques sont variables, du moins parmi les substrats qui lui ont été soumis.

Les formes végétatives supportent l'anaérobiose mais présentent, en ce cas, des formes aberrantes. Les spores y sont évidemment plus résistantes.

La température de 20°C lui est favorable.

Ce genre exige des facteurs de croissance propres aux eaux interstitielles car il se multiplie beaucoup moins facilement sur un milieu à l'eau de mer, la teneur en NaCl étant par ailleurs semblable. Nous pouvons supposer que le fer est un de ces éléments essentiels.

Signalons encore la présence certaine de *Spirillum* quoique nous n'ayons pu les isoler directement.

Nous avons mentionné le fait qu'ils cultivent difficilement sur milieux habituels et qu'ils sont mal connus.

Observés en grand nombre dans nos cultures de Ciliés, ils exigent, pensons-nous, un certain commensalisme avec ceux-ci.

Nous pourrions sans doute tirer avantage de ce fait pour expérimenter des milieux plus appropriés à la culture de ces bactéries.

Nous sommes parfaitement consciente des lacunes que présente l'étude du comportement d'espèces isolées de leur milieu naturel.

En outre, c'est l'ensemble de la communauté microbienne qui se devrait d'être analysée.

Nous espérons toutefois avoir apporté notre pierre à l'édifice en construction qu'est la biologie marine.

Avec FERGUSON-WOOD (1967), gardons à l'esprit le fait que les océans font dériver de la terre de vaste quantités de nutriments et qu'une des tâches qui s'imposent aux microbiologistes d'aujourd'hui est de rechercher des méthodes d'utilisation de ce matériel par des procédés biologiques qui sont déjà existants dans la mer, soit en accélérant les processus, soit en raccourcissant les chaînes alimentaires, soit encore en adaptant d'autres voies et, surtout, en empêchant que soit détériorée à jamais cette formidable réserve de vie.

Mais, comme l'écrit le Professeur CAPART (1973) qui nous a communiqué son enthousiasme pour les recherches océanographiques :

"Pour défendre la mer menacée par la folie des hommes, ne "faut-il pas tout d'abord l'aimer et la comprendre?".

R E S U M E

L'objet principal de ce travail est la détermination des bactéries qui peuplent un sable littoral.

En profondeur du sable on rencontre une eau interstitielle capillaire qui subit un déplacement vertical sous l'effet des marées et des conditions atmosphériques. Ses caractéristiques chimiques sont les suivantes :

la teneur en NaCl varie irrégulièrement de 22 à 33 % ;
la concentration en O_2 dissous diminue de la zone supralittorale vers la zone infralittorale ;
les teneurs en nitrites et nitrates sont du même ordre de grandeur qu'en mer tandis que les phosphates y sont plus abondants ;
le rapport C/N moyen atteint 15,47.

L'originalité de ce biotope est due aux propriétés adsorbantes des grains de sable et des matières humiques qui fixent les oligo-éléments et principalement le fer.

La flore est constituée presque exclusivement de Diatomées pennées mobiles et capables d'hétérotrophie.

La faune métazoaire est dominée par les Nématodes ; la faune protozoaire, par les Foraminifères, les Flagellés et les Ciliés. Les Ciliés typiquement microporaux sont inféodés à cet habitat particulier. Les Ciliés euryporaux, microphages, se multiplient intensément aux dépens des bactéries, dès que le milieu devient saprobe.

La flore bactérienne, considérée dans le sens de "fonction qu'elle exerce dans la communauté", est à prédominance protéolytique et glucidolytique. Elle est représentée à raison de 37,5 % par des *Bacillus* ; 62,4 % de ceux-ci appartiennent à une espèce qu'il est impossible de classer dans la systématique existante et que nous considérons comme nouvelle. Nous en présentons une diagnose détaillée.

B I B L I O G R A P H I E

AGAMALIEV, F.

- 1966 New species of psammobiotic ciliates of the western part of the Caspian Sea.— *Acta Protozool.*, 4, pp. 169-183.

AMOUREUX, L.

- 1963 Etude des teneurs en oxygène dans les eaux interstitielles de l'Aber de Roscoff.— *Cahiers de biologie marine*, 4, pp. 23-32.

ANDERSON D. et ZOBELL, C.

- 1936 Vertical distribution of bacteria in marine sediments.— *Bull. Amer. Assoc. Petrol. Geol.*, 20, n° 3.

ANDERSON, J. et MEADOWS, P.

- 1969 Bacteria on intertidal sand grains.— *Hydrobiologia*, 33, 1, pp. 33-46.

ANON,

- 1970 Bactériologie à l'usage des étudiants en médecine.— 3e édit., Crouan et Roques imp., Lille, pp. 344.

BARBETTE, J.

- 1971 Evaluation des populations bactériennes.— *Tech. Rep. C.I.P.S.*, 1971-01, Bact. 01, pp. 3.

BARNES, H.

- 1971 The intertidal zone.— *Cold water inshore marine biology. Some regional aspects.*, A symposium of the Northeastern University. Marine Science Institute., Boston, Massachusetts 02115.

BIANCHI, A.

- 1971 Ecologie et taxonomie des bactéries hétérotrophes aérobies des sédiments marins. Leur participation à la dégradation des matières organiques.— *Thèse Doct. Sci.nat.*, Aix-Marseille, Arch.orig. Centre Document. C.N.R.S., n° 5223, 21 déc. 70., pp. 221.

- BIANCHI, M.
- 1971 Etude comparée de vibrions de haute mer et de leurs homologues non marins : Biochimie, nutrition et taxonomie numérique. - Arch. Mikrobiol., 77, pp. 127-139.
- BIANCHI, A.
- 1973 Variations de la concentration bactérienne dans les eaux et les sédiments littoraux.- Marine Biology, 22, pp. 23-29.
- BONDE, G.
- 1973 The genus *Bacillus*. An examination of 460 mesophilic strains. - I.S.S. Research council's series n° 2, Copenhagen.
- BORROR, A.
- 1968 Systematics of *Euplotes*. - J. Protozool. , 15, 4, pp. 802-808.
- BOUQUIAUX, J. et HERMAN, P.
- 1972 Inventaire de la pollution côtière. - C.I.P.S., Bruxelles, Rapport de synthèse sur les journées d'étude des 6,7 et 8 novembre 1972, Ch. 10.
- BREED, R., MURRAY, E. et SMITH, N.
- 1957 Bergey's manual of determinative bacteriology. - 7e éd., Williams and Wilkins Company, Baltimore, pp. 1094.
- BREWER, J.
- 1939 A modification of the Brown anaerobe jar. - J. lab. clin. Med., 24, p. 1190.
- BRISOU, J.
- 1955 Microbiologie du milieu marin. - Paris, Flammarion, pp. 271.
- BRISOU, J.
- 1963 Microbiologie comparée. Pour une systématique fonctionnelle (2e mémoire). Rev. Path. Gén. et Phys. Clin. n° 746, pp. 339-360.

- BRISOU, J., de RAUTLIN de la ROY, Y., CURCIER, R. et CAMPELLO, F.
- 1963 Numérotation comparative des bactéries marines par cultures et lecture directe sur membranes. C.R. séances Soc. Biol., Tome 47, n° 3, p. 635.
- BRISOU, J. TYSSET, C., de RAUTLIN de la ROY, Y., CURCIER, R. et MOREAU, R.
- 1964 Etude sur la chitinolyse en milieu marin. Ann. inst. Past. n° 4124, Tome 106, pp. 496-478.
- BRISOU, J. et VARGUES, H.
- 1965 Etude sur l'halophilie des bactéries isolées du milieu marin. - C.I.E.S.M., 18,3.
- BRISOU, J. de RAUTLIN de la ROY, Y. et RIGOMIER, D.
- 1965 Teneur en matière organique du milieu marin et vie microbienne. - C.R. séances Soc. Biol., Tome 159, n° 3, p. 745.
- BRISOU, J., GAVAUDAN, P. et BESSON, J.
- 1966 Etude critique de la classification chimique des bactéries. - Bull. Dipl. Microbiol. Fac. Méd. Nancy, 102, pp. 1-12.
- BRISOU, J. et RIGOMIER, D.
- 1968 Le plancton marin capteur et vecteur de bactéries. - Congrès de Monaco, septembre 1968.
- BRISOU, J. et de RAUTLIN de la ROY, Y.
- 1970 Aspects cliniques des levuroses contractées en milieu marin. - Bull. Soc. fr. Mycol. méd., 18, pp. 12-14.
- BRISOU, J.
- 1971 Techniques d'enzymologie bactérienne. Masson édit. Paris, pp. 286.
- BRISOU, J. TYSSET, C. et RAUTLIN de la ROY, Y.
- 1971 Importance du groupe *Phytobacterium* dans le milieu marin. Rapp. Comm. int. Mer Médit., 20,3, pp. 273-274.

- BROOKS, R. BREZONIK, P., PUTNAM, H. et KEIRN, M.
- 1971 Nitrogen fixation in an estuarine environment : the Waccasassa on the Florida Gulf Coast.- Limnol. and Oceanogr. U.S.A., 16,5,pp 701-710.
- CALKINS, G.
- 1915 Biology of the Protozoa.-J.exp.Zool., 19, p. 225.
- CALLAME, B.
- 1967 Sur la diffusion de l'oxygène à l'intérieur des sédiments marins. - Trav. Cent. Rech. Etud. Océanogr. 7, pp. 25-29.
- CAPART, A.
- 1973 Merveilles des Mers. - Stemma édit., Bruxelles, pp.164.
- CAREY, CORNELIA, L.
- 1938 The occurrence and distribution of nitrifying bacteria in the sea. - J. Mar. Res., 1, pp. 291-304.
- CHAPPUIS, P.
- 1953 Sur certaines reliques marines dans les eaux souterraines. - Ier Congrès intern. Spéléologie, 3, 3, pp. 47-53.
- CHARDEZ, D.
- 1972 Etudes sur les protozoaires psammophiles littoraux-- pp. 1-13.
- CHATTON, E. et LWOFF, A.
- 1930 Imprégnation, par diffusion argentique, de l'infraci
- CORLISS, J.
- 1974 The changing world of Ciliate Systematics : Historical analysis of past efforts and a newly proposed phylogenetic scheme of classification for the Protistan phylum Ciliophora. - System. Zool., 23, pp. 91-138.

DARTEVELLE, Z.

- 1971 Contribution à l'étude des relations entre les paramètres physico-chimiques et la pollution bactériologique des eaux marines du littoral belge et de l'estuaire de l'Escaut. - Nato Subcommittee on Oceanographic Research, Technical Report n° 59, Brussels, pp. 43.

DARTEVELLE, Z.

- 1973 Considérations sur l'état bactériologique de quelques plages belges. - Bull. Inst. r. Sc. nat. Belg., 49, 2, pp. 27.

DARTEVELLE, Z., PINON, J., ROUSSEAU, R. et DESCHACHT, W.

- 1974 Diffusion et migration de l'eau polluée le long des plages belges. Nouvelle expérience avec rejet de 100 kg de rhodamine B. Conclusions préliminaires. - Bull. Inst. r. Sc. nat. Belg., 50, 8, pp. 18.

DARTEVELLE, Z. et DESMET, L.

- 1975 Recherche des *Shigella* en mer et dans un estuaire.
- I .- Fréquence des Bactériophages en eau polluée.
 - II .- Tentative d'inhibition de l'adsorption des Shigaphages et recherche des *Shigella* sur milieu sélectif.
 - III .- Détermination "in vitro" de la durée de survie de *Shigella sonnei* YCD en eau de mer. - Ann. Inst. Past., (sous presse).

DE CONINCK, L.

- 1972 Etudes bactériologiques.- C.I.P.S., Bruxelles, Rapport de synthèse sur les journées d'étude des 6,7 et 8 novembre 1972, Ch. 9.

DEGENS, E. et MOPPER, K.

- 1975 Early diagenesis of organic matter in marine soils.- Soil Science, 119, 1, pp. 65-72.

DELAMARE DEBOUTTEVILLE, C.

- 1960 Biologie des eaux souterraines, littorales et continentales. - Hermann édit., Paris, pp. 740.

DE LEY, J. et PARK, I.

- 1966 Molecular biological taxonomy of some free-living nitrogen fixing bacteria. - Antonie van Leeuwenhoek, 32, 6.

DENIS, F.

- 1966 Métabolisme du gluconate chez les bactéries. Intérêt taxinomique. - Thèse de Médecine soutenue à Tours, n° 26, 24 nov. 1966, pp. 148.

DENIS, F. et BRISOU, J.

- 1967 Comportement des bactéries en présence des acides gluconique, citrique et itaconique. - Commentaires de Microbiologie du Laboratoire Le Dantec, Poitiers, n°3.

DENIS, F.

- 1971 Contribution à l'étude des bactéries hétérotrophes du milieu marin : inventaire de 2700 souches. - Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur ès Sciences Naturelles. Université de Poitiers, n° C.N. R.S. - A 0 5720, n° 128,9 juin 1971, pp. 455.

DENIS, F.

- 1971 Les *Bacillus* du milieu marin : étude de 120 souches. C.R. Soc. Biol. Fr., 165, 12, pp. 2404-2408.

DEPUYDT, F.

- 1972 De Belgische strand- en duinformaties in het kader van geomorfologie der zuidoostelijke Noordzeekust. - Kon. Acad. voor Wet. Let. en Sch. Kunst. van Belg., Klas. des Wet., 34, 122, pp. 228.

DEVEZE, L., LE PETIT, J. et MATHERON, R.

- 1966 Note préliminaire sur la présence dans les eaux et les sédiments marins de bactéries solubilisant certains sels minéraux insolubles (carbonates, phosphates et silicates). - Bull. Inst. océanogr. Monaco, 66, 1370, pp. 1 - 8.

DIVE, D.

- 1973 La nutrition holozoïque des protozoaires ciliés. Ses conséquences dans l'épuration naturelle et artificielle. - Ann. Biol., 12, 7-8, pp. 344-380.

DRAGESCO, J.

- 1960 Ciliés mésopsammiques littoraux. Systématique, morphologie, écologie. - Trav. Sta. biol. Roscoff (N.S.), 12, pp. 1-356.

DRAGESCO, J.

- 1963 Compléments à la connaissance des ciliés mésopsammiques de Roscoff. 1. Holotriches. - Cah. de Biol. mar., 4, pp. 91-119.

DRAGESCO, J.

- 1963 Compléments à la connaissance des ciliés mésopsammiques de Roscoff. 2. Hétérotriches. - Cah. de Biol. mar., 4, pp. 251-275.

DROOP, M. et FERGUSON WOOD, E.

- 1968 Advances in microbiology of the sea. - Academic Press édit., London and New York, pp. 239.

FANNING, K. et PILSON, M.

- 1971 Interstitial silica and pH in marine sediments : some effects of sampling procedures. - Science, 173, pp. 1228-1231.

FAURE-FREMIET, E.

- 1948 Le rythme de marée du *Strombidium oculatum* Gruber. - Bull. Biologique, 82, pp. 3-23.

FAURE-FREMIET, E.

- 1948 The Ecology of some Infusorian communities of intertidal pools. - J. of An. Ecology, 17, pp. 127-130.

FAURE-FREMIET, E.

- 1950 Morphologie comparée et systématique des Ciliés. - Bull. Soc. Zool. France, 75, pp. 109-122.

FAURE-FREMIET, E.

- 1950 Ecologie des Ciliés psammophiles littoraux. - Bull. Biologique, 84, pp. 35-75.

FAURE-FREMIET, E.

- 1950 Rythme de marée d'une *Chromulina* psammophile. - Bull. Biologique, 84, pp. 207-214.

FAURE-FREMIET, E.

- 1950 Ecologie des Infusoires Ciliés.- *Endeavour*, 9, pp. 183-187.

FAURE-FREMIET, E.

- 1951 The marine Sand-Dwelling Ciliates of Cape Cod. - *Biol. Bull.*, 100, pp. 59-70.

FAURE-FREMIET, E.

- 1951 Ecologie des Protistes littoraux. - *Ann. Biol.*, 27, pp. 437-447.

FELL, J. et VAN UDEN, N.

- 1963 Yeasts in marine environments. - *Symposium on Marine Microbiology*, - C.H. Oppenheimer édit., Springfield, pp. 329-340.

FENCHEL, T.

- 1971 The reduction-oxidation properties of marine sediments and the vertical distribution of the microfaune. - *Vie et Milieu*, suppl. n° 22, 2, pp. 510-521.

FERGUSON WOOD, E.

- 1967 Microbiology of oceans and estuaries.- Elsevier Publishing Company édit., Amsterdam-London-New York, pp. 319.

FUSTEC-MATHON, E.

- 1971 Influence de la sécheresse et de l'élévation de température sur quelques souches d'*Azotobacter* isolées de sédiments du littoral atlantique. - *C.R.S. Soc. Biol. Fil.*, 165, 1, pp. 172-177.

GADEL, F., CAHET, G. et BIANCHI, A.

- 1975 Submerged soils in the northwestern Mediterranean Sea and the process of humification.- *Soil Science*, 119, 1, pp. 106-112.

GESLIN, M.

- 1975 Place du genre *Bacillus* en microbiologie comparée. Etude de 409 souches de provenance variée. - Thèse de Doctorat en Pharmacie soutenue à Poitiers, 19 mars 1975, pp. 154.

GINELL, R. et FEUCHTBAUM, R.

- 1972 Fluorescent spectrophotometry in the identification of bacteria. - J. appl. Bact., 35, 1, pp. 29-36.

GORDON, M.

- 1960 Anaerobiosis in marine sandy beaches. - Amer. Ass. for Adv. of Sc., 132, pp. 616-617.

GORDON, R.

- 1973 The genus *Bacillus*. - Handbook of Microbiology, Vol. 1, Laskin Lechevalier Press. édit., Cleveland.

GREEN, E. et CARRITT, D.

- 1967 New tables for oxygen saturation of sea-water. - J. Mar. Res., 25, 2, pp. 140-147.

GUILLON, G.

- 1966 Contribution à l'étude du genre *Phytobacterium*. - Thèse de Médecine, Université de Poitiers, France.

HATA, Y., KADOTA, H., HIYOSHI, H. et KIMATA, M.

- 1964 Microbial production of sulphides in polluted coastal and estuarine regions. - Proc. 2nd Int. Conf. Wat. Pollution. Res., Tokyo, 3, pp. 287-302.

HO, C. et LANE, J.

- 1973 Interstitial water composition in Barataria Bay (Louisiana) sediments. - Estuar. and Coast. Mar. Sc., 1, pp. 125-135.

ISHIDA, Y., NAKAYAMA, A. et KADOTA, H.

- 1972 Temperature-salinity effects upon the growth of marine bacteria. - In "Effect of the ocean environment on microbial activities", Proceedings of the Second United States-Japan Conference on Marine Microbiology, Chap. 2, pp. 80-91, University Park Press, Baltimore-London-Tokyo.

JACKSON, T.

- 1975 Humic matter in natural waters and sediments. - Soil Science, 119, 1, pp. 56-64.

JADIN, J.

- 1974 De la dispersion et du cycle des amibes libres. - Colloque international sur la méningo-encéphalite amibienne primitive et les amibes libres, 30 nov.-02 déc. 1973, Inst. Méd. Trop. Antwerpen, pp. 147-161.

JENSEN, H., PETERSEN, E., DE, P. et BHATTACHARYA, R.

- 1960 A new nitrogen-fixing bacterium : *Derxia gummosa* n.gen., n. spec. - Arch. Mikrobiol., 36, pp. 182-195.

JOLY, B.

- 1973 Contribution à l'identification des espèces du genre *Bacillus* par l'étude normalisée des caractères enzymatiques. - Intérêt en taxonomie. U.E.R. de Pharmacie, Université de Clermont-Ferrand.

KAHL, A.

- 1930 à 1935 Urtiere oder Protozoa. 1. Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria). - Die Tierwelt Deutschlands, Jena, Verlag von Gustav Fischer, 5 Vol., pp. 886.

KAISER, P.

- 1966 Ecologie des bactéries photosynthétiques. - Rev. Ecol. Biol. Sol, Tome 3, 3, pp. 409-472.

KANWISHER, J.

- 1962 Gaz exchange of shallow marine sediments. - Symposium of the environmental chemistry of marine sediments, Publ. n° 1, University of Rhode Island.

KARLSON, P.

- 1964 Biochimie. - Doin, Edit., Paris, pp. 403.

KEUTNER, J.

- 1905 Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. - Wiss. Meeresunters., 8, pp. 27-55.

KHIYAMA, H. et MAKEMSON, J.

- 1973 Sand beach bacteria : enumeration and characterization. Appl. Microbiol., 26, 3, pp. 293-297.

KLIGLER, I. et GUGGENHEIM, K.

- 1938 The influence of vitamin C on the growth of anaerobes in the presence of air, with special reference to the relative significance of Eh and O_2 in the growth of anaerobes. - J. Bact., 35, pp 141-156.

KNIGHT, B. et PROOM, H.

- 1950 A comparative survey of the nutrition and physiology of mesophilic species in the genus *Bacillus*. - J. Gen. Microbiol., 4, p. 508.

KRASSILNIKOV, N.

- 1938 The bacterial action of sea-water.- Mikrobiologija, 7, pp. 329-334.

KRASSILNIKOV, N.

- 1959 Diagnostik der bacterien und actinomyceten. - V.E.B. Gustav Fischer Verlag, Jena.

KREGER-VAN RIJ, N.

- 1962 The use of biochemical criteria in the taxonomy of yeasts. - Microbiol. Classif., pp. 196-211.

KRISS, A.

- 1959 Morskaja Mikrobiologija.- Akad. Nauk SSSR, Moscow. (English trans. (1963) : "Marine Microbiology", Oliver and Boyd édit., Edinburgh.

KROGH, A.

- 1934 Conditions of live in the ocean.- Ecol. Monogr., 4, pp. 421-439.

KRUMBEIN, W.

- 1972 Rôle des microorganismes dans la genèse, la diagenèse et la dégradation des roches en place. - Rev. Ecol. Biol. Sol, Tome 9, 3, pp. 283-319.

KUFFERATH, J.

- 1970 Contributions à l'étude des bactéries des eaux marines du littoral belge. - Bull. Inst. r. Sc. nat. Belg., 46, 36.

LACKEY, J.

- 1936 Occurrence and distribution of the marine protozoan species in the Woods Hole area. - Biol. Bull., 70, pp. 264-278.

LAFONTAINE, A., DE MAYER-CLEEMPOEL, S., BARBETTE, J., DE BRABANDER K., MONCOUSIN, H., van OYE, E., MAES, L., ROBINET, R., DE LEENER, J. et GRYSON, A.

- 1973 La pollution bactérienne des eaux de mer le long du littoral belge. - Arch. belg. Méd. Soc. Hyg. Méd. Trav. Méd. lég. belg., 30, n° 8, pp. 517-555.

LAGARDE, E.

- 1964 Méthode d'estimation du pouvoir dénitrifiant des eaux et des sédiments marins. - Vie et Milieu, 15, pp. 213-217.

LECHEVALIER, H.

- 1964 The actinomycetes. - In "Principles and Applications in Aquatic Microbiology", Chap. 12, pp. 230-253, John Wiley and Sons, Inc. édit., New York-London-Sydney.

LELOUP, E. et POLK, P.

- 1966 Observations sur la salissure dans le port d'Ostende.- Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg., 42, 23.

LEMILLE, F., DE BARJAC, H. et BONNEFOI, A.

- 1969 Essai sur la classification biochimique de 97 souches de *Bacillus* du groupe 1 appartenant à 9 espèces différentes. - Ann. Inst. Past., 116, p. 808.

LOCHON, J-C.

- 1972 La Caseolyse chez les bactéries aérobies. - Thèse pour le Doctorat en Médecine, Université de Poitiers, 21 juin 1972, pp. 93.

- LUCK, M., SHEETS, G. et THOMAS, J.
- 1931 The rôle of bacteria in the nutrition of protozoa.-
 The Quart. Rev. of Biol., 6, 1, pp. 46-58.
- LWOFF, A.
- 1923 Sur la nutrition des infusoires. - C.R. Acad. Sci.,
 Paris, 176, pp. 928-930.
- MAC LEOD, R. et ONOFREY, E.
- 1953 Studies on the nutrition and metabolism of marine bacteria. 2 : Some mineral requirements of marine bacteria. - Prog. Repts. Pacif. Coast, St. 97, pp. 18-20.
- MAC LEOD, R., CLARIDGE, C., HORI, A. et MURRAY J.
- 1958 Observations on the function of sodium in the metabolism of a marine bacterium. - J. Biol. Chem., 232,
 pp. 829-834.
- MAIER, W. et Mac CONNELL, H.
- 1974 Carbon measurements in water quality monitoring. -
 J.W.P.C.F., 46, 4, pp. 623-633.
- MAKEMSON, J.
- 1973 Oxygen and Carbon dioxide in interstitial water of
 two Lebanese sand beaches. - Nether. J. of Sea Res.,
 7, pp. 223-232.
- MATHERON, R. et BAULAIGUE, R.
- 1972 Bactéries photosynthétiques sulfureuses marines. Assimilation des substances organiques et minérales et influence de la teneur en chlorure de sodium du milieu de culture sur leur développement. - Mikrobiol., 86, 4, pp. 291-304.
- MEADOWS, P. et ANDERSON, J.
- 1968 Micro-organisms attached to marine sand grains. - J. mar. biol. Ass. U.K., 48, pp. 161-175.
- MICHOUSTINE, E.
- 1972 Processus microbiologiques mobilisant les composés du phosphore dans le sol. - Rev. Ecol. Biol. Sol, 9, 3,
 pp. 521-528.

MIGNOLET, R.

- 1972 Etat actuel des connaissances sur les relations entre la Microfaune et la Microflore édaphiques. - Rev. Ecol. Biol. Sol, 9, 4, pp. 655-670.

MORITA, R.

- 1972 Temperature effects on marine microorganisms.- In "Effect of the ocean environment on microbial activities", Proceedings of the Second United States-Japan Conference on Marine Microbiology, Chap. 2, pp. 75-79, University Park Press, Baltimore-London-Tokyo.

MORITA, R. et BUCK, G.

- 1972 Low-temperature inhibition of substrate uptake. - In "Effect of the ocean environment on microbial activities", Proceedings of the Second United States-Japan Conference on Marine Microbiology, Chap. 2, pp. 124-129, University Park Press, Baltimore-London-Tokyo.

NIELSEN, C.

- 1967 Nematoda. In "Soil Biology", Burges et Raw eds., Academic Press, London, 7, pp. 197-212.

OKUTANI, K. et KITADA, H.

- 1971 The distribution of chitin- et N- acetylglucosamine-decomposing bacteria in aquatic environments. - Tech. Bull. Fac. Agr. Kagawa Univ., 23, 1, pp. 127-136.

OLSEN, S.

- 1966 Recent trends in the determination of orthophosphate in water.- Chemical environment in the aquatic habitat, Proceedings of an I.B.P. Symposium, Amsterdam, oct. 1966, pp. 63-105.

OTT, J. et SCHIEMER, F.

- 1973 Respiration and anaerobiosis of free living nematodes from marine and limnic sediments. - Nether. J. of Sea Res., 7, pp. 233-243.

OVERBECK, J.

- 1974 Microbiology and biochemistry. - Mitt. Internat. Verein. Limnol., 20, pp. 198-228.

- PAUL, K. et MORITA, R.
- 1971 Effects of hydrostatic pressure and temperature on the uptake and respiration of amino acids by a facultatively psychrophilic marine bacterium. - J. Bacteriol. 108, pp. 835-843.
- PENNAK, R.
- 1940 Ecology of the microscopic metazoa inhabiting the sandy beaches of some Wisconsin lakes. - Ecol. Monogr. 10, pp. 537-615.
- PENNAK, R.
- 1951 Comparative ecology of the interstitial fauna of fresh water and marine beaches. - Ann. biol., 3, 27, pp. 449-480.
- PERSOONE, G.
- 1964 Contributions à l'étude des bactéries marines du littoral belge. 1. Un appareil simple pour détacher et obtenir en suspension les bactéries contaminant les surfaces. - Bull. Inst. r. Sci. Belg., 41, 5.
- PERSOONE, G. et DE PAUW, N.
- 1968 Pollution in the harbour of Ostend (Belgium). - Helgoland, Wissenschaft. Meeres., 17, pp. 302-320.
- PINON, J.
- 1972 Pollution marine microbiologique le long de la côte belge. - Forces Armées Belges, Journée Scientifique du Service de Santé, Oostende, 6 mai 1972, pp. 33.
- POCHON, J. et TARDIEUX, P.
- 1962 Techniques d'analyse en microbiologie du sol. - Coll. Tech. de base, de la Tourelle édit., St Mandé.
- PODAMO, J.
- 1972 Relations entre des populations successives de phytoplancton et de bactéries hétérotrophes dans le bassin de chasse d'Ostende (Belgique) en 1971. - Ann. Soc. roy. zool. Belg., 102, 3, pp. 135-142.

- POLK, P.
- 1972 Le Plancton.- C.I.P.S., Bruxelles, Rapport de synthèse sur les journées d'étude des 6, 7 et 8 novembre 1972, Ch. 7.
- PRATT, V.
- 1972 Numerical Taxonomy - A Critique. - J. theor. Biol. 36, pp. 581-592.
- PRATT, D.
- 1972 Salt requirements for growth and function of marine bacteria. - In "Effect of the ocean environment of microbial activities", University Park Press, Baltimore-London-Tokyo.
- Proceedings of the Second United States-Japan Conference on Marine Microbiology, Chap. 1, pp. 3-15, University Park Press, Baltimore-London-Tokyo.
- PREVOT, A.
- 1958 Utilité de la bactériologie marine dans le présent et dans l'avenir. - Bull. Inst. Océanogr., 1114, pp. 22.
- PREVOT, A.
- 1961 Traité de Systématique Bactérienne. - Dunod édit., Paris, pp. 471.
- REED, G. et ORR, J.
- 1943 Cultivation of anaerobes and oxidation-reduction potentials. - J. Bact., 45, pp. 309-320.
- REMANE, A.
- 1933 Verteilung und Organisation der benthonischen Mikrofauna der Kieler Bucht. - Wiss. Meeresunters. 21, pp. 161-221.
- REMANE, A.
- 1940 Einführung in die zoologische Ökologie der Nord-und Ostsee. - Tie w.N.u. Ostsee, 1a, pp. 1-238.
- REUSZER, H.
- 1933 Marine bacteria and their rôle in the cycle of life in the sea. 3. The distribution of bacteria in the

- ocean waters and muds about Cape Cod.- Biol. Bull.,
65, pp. 480-497.
- ROMMELAERE, Y. et DEVRIENDT, L.
1972 Mesure en continu des sels nutritifs en eau de mer.
Nato Subcommittee on Oceanographic Research, Technical Report n° 57.
- RÜGER, H-J.
1972 Taxonomic studies of marine bacteria from North Sea sediments : Genus *Vibrio*. Proposal for combining marine vibrio-like bacteria in a new genus *Marinovibrio*. Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh., 13, pp. 239-254.
- SENEZ, J.
1949 Bactéries anaérobies des sédiments marins. Ann. Inst. Past., 77, 4, pp. 512-535.
- SENEZ, J.
1950 Problèmes écologiques concernant les bactéries des sédiments marins. Vie et Milieu, 2,1, pp. 5-43.
- SIEBURTH, J.
1967 Seasonal selection of estuarine bacteria by water temperature. J. exp. mar. Biol. Ecol., 1, pp. 98-121.
- SMITH, N., GORDON, R. et CLARK, F.
1952 Aerobic spore forming bacteria. Agric. Monogr. U.S. Dep. of Agric., n° 16.
- STANIER, R., DOUDOROFF, M. et ADELBERG, Ed.
1966 Microbiologie générale. - Masson édit., Paris,
pp. 638.
- STANGENBERG, M.
1934 Psammolitoral, ein extrem eutrophes Wassermedium. Arch. d'Hydrobiol. et d'Ichthyol., Suwamki, 8,
pp. 273-284.

- STRICKLAND, J. et PARSONS, T.
- 1972 A practical handbook of sea-water analysis.
Fish. Res. Board of Canada, Ottawa.
- SUEHIRO, S.
- 1963 Studies on the marine yeasts. 3. Yeasts isolated from the mud of tide land. - Sci. Bull. Fac. Agric. Kyushu Univ., 20, pp. 223-227.
- SVERDRUP, H. JOHNSON, M. et FLEMING, R.
- 1946 The Oceans. Their physics, chemistry and general biology. Prentice-Hall, Inc. édit., New York, pp. 1087.
- SWEDMARK, B.
- 1964 The interstitial fauna of marine sand. - Biol. Rev., 39, pp. 1-42.
- TARDIEUX- ROCHE, A.
- 1966 Contribution à l'étude des interactions entre phosphates naturels et microflore du sol. - Thèse Univ. Paris.
- THEEDE, H.
- 1973 Comparative studies on the influence of oxygen deficiency and hydrogen sulphide on marine bottom invertebrates. - Nether. J. of Sea Res., 7, pp. 244-252.
- THIBAULT, P.
- 1971 Cours de Microbiologie systématique. - Inst. Past., Paris.
- TUFFRAU, M.
- 1960 Révision du genre *Euplates*, fondée sur la comparaison des structures superficielles. Hydrobiologia, 15, pp. 1-77.
- VAN MEEL, L.
- 1972 La Mer du Nord Méridionale, le Pas-de-Calais et la Manche. Essai d'écologie marine, principalement en ce qui concerne le microplancton. 1. Etude du milieu. Hayez édit., Bruxelles, pp. 619.

VAN NIEL, C.

- 1931 On the morphology of the purple and green sulphur bacteria. *Arch. Mikrobiol.*, 3, pp. 1-112.

VAN UDEN, N. et FELL, J.

- 1968 Marine yeasts. - In "Advances in Microbiology of the sea", Vol. 1, by DROOP, M. et FERGUSON WOOD, E., Academic Press édit., London and New York, pp. 167-201.

VENKATARAMAN, R. et SCREENIVASAN, A.

- 1954 Bacterial flora of sea water and mackerels off Tellicherry (Malabar). - *Proc. Nat. Acad. Sci., India, Sect. A*, 20, pp. 651-655.

WAKSMAN, S.

- 1933 On the distribution of organic matter in the sea bottom and the chemical nature and origin of marine humus. - *Soil Sci.*, 36, pp. 125-147.

WAKSMAN, S. REUSZER, H., CAREY, C., HOTCHKISS, M. et RENN, C.

- 1933 Studies on the biology and chemistry of the Gulf of Maine. 3. Bacteriological investigations of the sea-water and marine bottoms. - *Biol. Bull.*, 64, pp. 183-205.

WEBB, M.

- 1956 An ecological study of brackish water ciliates. - *J. Anim. Ecol.*, 25, pp. 148-175.

WERNER, D., EVANS, H. et SEIDLER, R.

- 1974 Facultatively anaerobic nitrogen-fixing bacteria from the marine environment. - *Canad. J. Microbiol.*, 20, 1, pp. 59-64.

WHITTENBURY, R.

- 1971 Enrichment and isolation of photosynthetic bacteria... In "Isolation of anaerobes" by SHAPTON, D. et BOARD, R., Academic Press édit., London and New York, pp. 241-249.

WINOGRADSKY, S.

- 1887 Les Sulfobactéries-Version française du mémoire "Ueber Schwefelbacterien". -Botanische Zeitung, 45, pp. 73.

WINOGRADSKY, S.

- 1947 Principes de la microbiologie écologique. - Antonie van Leeuwenhoek, 12, pp. 5- 15.

WOOD, E.

- 1953 Heterotrophic bacteria in marine environment of Eastern Australia. Aust. J. Mar. Freshw. Res., 4, 1, pp. 160-200.

ZOBELL, C. et FELTHAM, C.

- 1934 Preliminary studies on the distribution and characteristics of marine bacteria. - Bull. Scripps Inst. Oceanogr., Tech. Ser. 3, pp. 279-296.

ZOBELL, C. et ANDERSON, D.

- 1936 Vertical distribution of bacteria in marine sediments. Bull. Amer. Assoc. Petrol. Geol., 20, pp. 258-269.

ZOBELL, C. et RITTENBERG, S.

- 1938 The occurrence and characteristics of chitinoclastic bacteria in the sea. - J. Bacteriol., 35, pp. 275-287.

ZOBELL, C.

- 1946 Functions of bacteria in the formation and accumulation of petroleum. - Oil Weekly, fev. 18.

ZOBELL, C.

- 1946 Marine microbiology. - Waltham édit., Mass., U.S.A., pp. 240.

ZOBELL, C. et RITTENBERG, S.

- 1948 Sulfate-reducing bacteria in marine sediments. - J. Marine Res. 7, pp. 602-617.

ZOBELL, C.

- 1950 Bacterial activities and the origin of oil. - World Oil, 130, pp. 128-138.

ZOBELL, C.

- 1952 Part played by bacteria in petroleum formation. J. Sediment. Petrol., 22, pp. 42-49.

ZOBELL, C. et MORITA, R.

- 1957 Barophilic bacteria in some deep-sea sediments. J. Bacteriol., 73, pp. 563-568.

ZOBELL, C.

- 1958 Ecology of sulfate reducing bacteria. - Producers Mon. Penn. Oil Prod. Ass., 22, pp. 12-29.

ZOBELL, C. et MORITA, R.

- 1959 Deep-sea bacteria. - Galathea report, Vol. 1., pp. 134-154.

ZOBELL, C.

- 1964 Organic geochemistry of sulfur. - In "Organic Geochemistry" by BREGER, I., Pergamon Press édit., London and New York, pp. 543-578.

