

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

TENTATIVE D'ESTIMATION DE L'ACTIVITE HETEROTROPHIE DANS
L'ESTUAIRE DE L'ESCAUT PAR INCORPORATION DE $\text{HC}^{14}\text{O}_3^-$ MARQUE A L'OBSCURITE.
(Campagnes de janvier, octobre et novembre 1973)

par Gilles BILLEN

Lab. de Chimie Industrielle (ULB) et
Lab. voor Ekologie en Systematiek (VUB).

Ce rapport présente une tentative d'estimation de l'activité des microorganismes hétérotrophes dans l'estuaire de l'Escaut.

La méthode utilisée (incorporation de $\text{HC}^{14}\text{O}_3^-$ à l'obscurité) est sujette à de nombreuses interférences et n'est pas d'une interprétation immédiate: aussi fera-t-elle l'objet d'une discussion approfondie.

Les variations saisonnières apparaissant sur la base des résultats des trois croisières sont interprétées en terme de dépendance vis à vis de la température, facteur supposé déterminant dans la partie amont de l'estuaire.

METHODE.

La méthode utilisée est essentiellement celle de ROMANENKO (1964) (Mikrobiol. 33, 679.).

10 ml d'eau de surface sont prélevés stérilement et immédiatement incubés pendant 3 à 5 heures à l'obscurité et à la température in situ après addition de 4 pCi de $\text{HC}^{14}\text{O}_3^-$. L'échantillon est alors filtré sur membranne de 0.2 μ de porosité. Le filtre est humecté d'une solution d'HCl 0.5 N, puis séché. Sa radioactivité en C^{14} est mesurée par scintillation liquide (Les réactifs et l'appareillage nécessaires ont aimablement été mis à notre disposition par le Laboratoire de biochimie du centre de recherche Labaz.)

L'incorporation de bicarbonate est alors calculée par la formule

$$= \frac{A \cdot \text{Alc.}}{8.9 \cdot 10^6 \cdot R \cdot t}$$

où A est la radicactivité du filtre mesurée en cpm et background déduit;

A_{lc} est la valeur de l'alcalinité de l'eau (déterminée en chaque point de mesure par titration par $\text{HCl } 10^{-2} \text{ N}$ jusqu'au virage du méthylorange).

$8.9 \cdot 10^6$ est la radicactivité des 4 uCi ajoutés (en dpm)

R est le rendement du comptage, déterminé par étallonnage. (Varie de 20 à 40 % selon la nature du matériel déposé sur le filtre.)

T est la durée de l'incubation.

RESULTATS.

3 profils d'incorporation de bicarbonate, établis à marée basse, sont reproduits sur la fig. 1.

Si les valeurs absolues de l'incorporation varient fortement de croisière en croisière, l'allure générale du profil reste sensiblement la même: valeurs élevées jusqu'au km 70 (région anversoise), suivies d'une chute très brutale et de valeurs plus faibles du km 60 (Doel) à l'embouchure. La chute de l'incorporation correspond géographiquement à la chute de la turbidité due à la sédimentation dans la région du port d'Anvers.

DISCUSSION ET INTERPRETATION DE LA MÉTHODE.

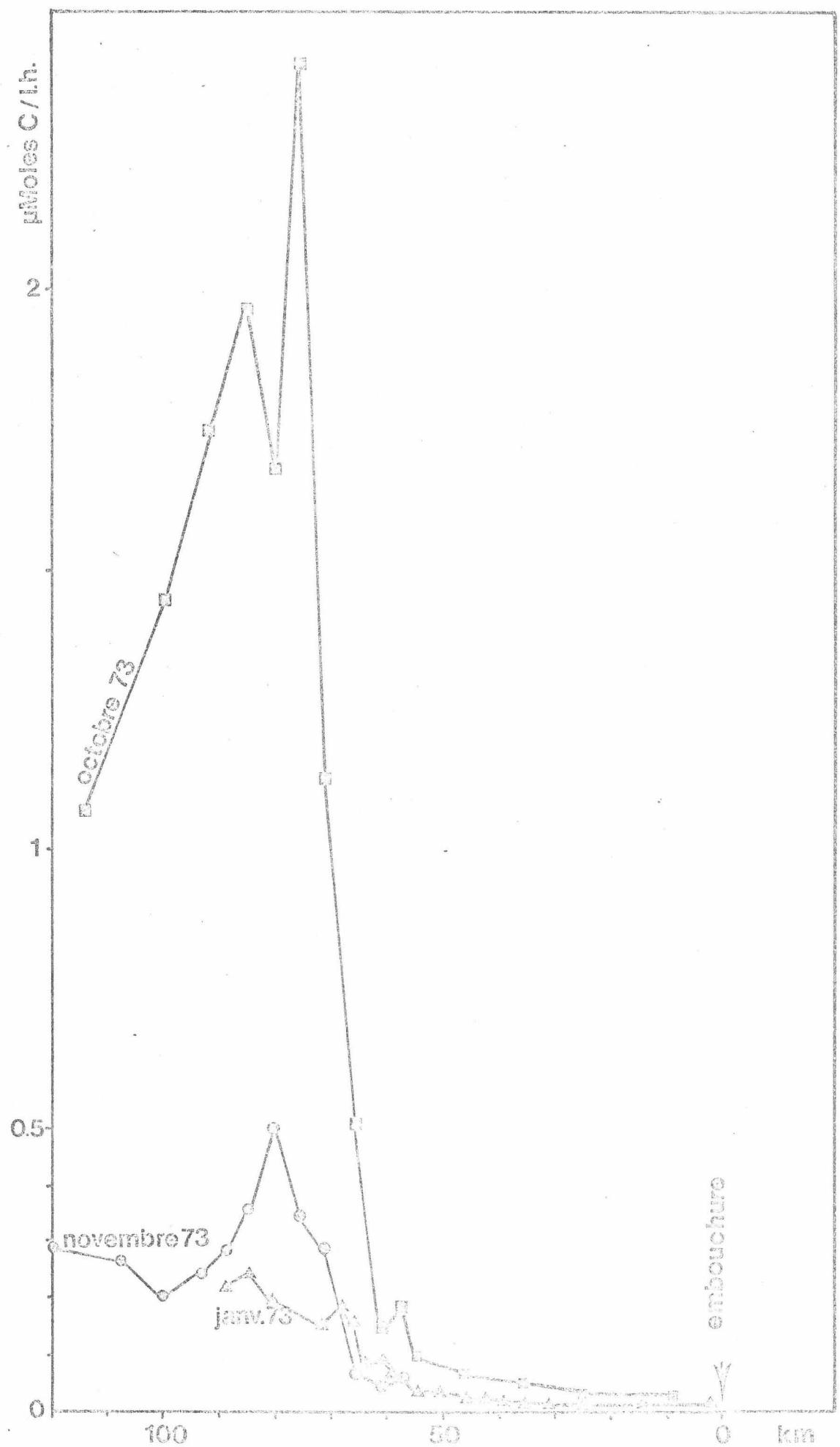
1.) L'incorporation de $\text{HC}^{14}\text{O}_3^-$ mesurée est due à l'activité biologique.

Etant donnée la sursaturation de l'eau de l'Escaut en carbonates, une précipitation purement chimique pourrait être pour une part de l'incorporation mesurée. On élimine cette interférence par le traitement des filtres par $\text{HCl } 0.5\text{N}$. Grâce à ce traitement, les témoins chloroformés ou formolés (donc sans activité biologique) fournissent des valeurs d'activité qui ne sont pas significativement différentes de la valeur du background (même échantillon incubé sans C^{14}).

témoin formolé:	33.9 cpm	$\pm 10 \%$
background:	31.0 cpm	$\pm 10 \%$
témoin chloroformé:	31.1 cpm	$\pm 10 \%$
background:	28.0 cpm	$\pm 10 \%$

2.) L'incorporation mesurée est due pour la plus grande part à l'activité des bactéries hétérotrophes.

L'incorporation biologique de bicarbonate peut être due au métabolisme de plusieurs types de microorganismes: d'une part les chemoautotrophes, pour lesquels les carbonates constituent la seule source de carbone, d'autre part les



hétérotrophes, qui utilisent le CO_2 pour une petite partie de leur métabolisme carbonné total (voies anaplérotiques).

Les bactéries nitrifiantes sont probablement les seules parmi les bactéries chemoautotrophes à jouer un rôle significatif dans l'Escaut; les autres groupes n'ont probablement qu'une activité très limitée en raison de l'absence en concentration suffisante des substrats nécessaires à leur métabolisme (CH_4 , HS^- en solution). Une méthode basée sur l'utilisation d'un inhibiteur spécifique de la nitrification (BILLEN, en préparation) permet de distinguer la part due aux hétérotrophes et celle due aux bactéries nitrifiantes dans l'incorporation de bicarbonate dans l'Escaut. La fraction attribuable à l'activité des bactéries nitrifiantes ne constitue en moyenne que 22 % du total.

A cause de l'intense activité hétérotrophe dans l'estuaire, celle-ci est donc responsable de la plus grande partie (78 %) de l'incorporation biologique de HCO_3^- à l'obscurité.

3.) Existe-t-il pour les bactéries hétérotrophes un rapport constant entre la quantité de bicarbonate fixé et la quantité totale de carbone assimilé?

La mesure de l'incorporation de HCO_3^- par les organismes hétérotrophes n'a d'intérêt que si elle permet de calculer l'activité hétérotrophe totale, c'est à dire s'il existe un rapport (K_f) pour les communautés bactériennes prises globalement entre cette incorporation et le métabolisme carbonné total. OVERBECK et DALEY (1973) (Bull. Ecol. Res. Comm. 17, 342) ont récemment discuté ce problème et cité les valeurs expérimentales suivantes pour K_f .

ROMANENKO (1964)	6 %
SOROKIN (1965)	4 %
mais pour beaucoup de bactéries anaérobies,	jusqu'à 30 %
OVERBECK (1972)	1 à 12 %

Le rapport K_f varie sensiblement selon la composition de la communauté microbiologique et son état physiologique.

Le calcul de l'activité hétérotrophe totale à partir de la mesure de l'incorporation de bicarbonate nécessite donc une grande prudence et devrait faire l'objet d'un étallonnage pour chaque milieu étudié. Pour fixer les idées dans le présent rapport, nous adopterons provisoirement une valeur de K_f de 10 % pour la partie amont, anaérobie de l'estuaire de l'Escaut. Il faut cependant insister sur le caractère très approximatif de l'estimation réalisée de cette manière. Dans la suite un étallonnage de la méthode devra être envisagé pour établir la valeur de K_f dans les différentes zones de l'estuaire. Comme autres méthodes pouvant être utilisées comme référence, citons la mesure de la consommation d'oxygène dans la zone aérobie (JOIRIS, 1973. Techn. report CIPS) et l'incorporation d'autres substrats organiques marqués (?).

ESTIMATION DE L'ACTIVITE HETEROtROPHE DANS L'ESCAUT.

Tout en gardant en mémoire les remarques qui précédent, on peut tenter d'estimer l'ordre de grandeur de l'activité hétérotrophe dans l'Escaut.

Nous nous sommes limités à la zone comprise entre le km 100 (Rupel) et le km 70 (zone portuaire d'Anvers) dans laquelle d'une part s'effectue la plus grande partie de la biodégradation de la charge organique, et où d'autre part peuvent être négligés, pour l'estimation grossière qui nous occupe, les phénomènes de dilution dans l'eau de mer.

La conversion des valeurs expérimentales d'incorporation de bicarbonate en activité hétérotrophe s'est faite comme exposé plus haut en prenant $K_f = 10\%$. Pour le calcul de l'activité totale cumulée, nous avons utilisés les temps de séjour de l'eau entre le km 100 et le km 70 calculés à partir du profil de salinité et du débit moyen mensuel de l'Escaut (résultats communiqués par R. WOLLAST et O. BECKERS.).

	activité hété- rotrophe moyenne	activité hétérotrophe totale cumulée
JANVIER 1973:	17 $\mu\text{g C/l.h}$	9 mg C/l. soit 24 mg $\text{O}_2/1.$
OCTOBRE 1973:	147 $\mu\text{g C/l.h}$	109 mg C/l. soit 292 mg $\text{O}_2/1.$
NOVEMBRE 1973:	28 $\mu\text{g C/l.h}$	20 mg C/l. soit 55 mg $\text{O}_2/1.$

Ces résultats montrent des variations saisonnières extrêmement importantes. Celle-ci peuvent être dues en partie à des variations dans l'apport de matière organique. On ne s'attend cependant pas à voir cet apport varier de beaucoup plus d'un facteur 2 au cours de l'année. La température de l'eau pourrait également avoir un rôle important sur l'activité hétérotrophe globale, tant par l'intermédiaire du métabolisme individuel des organismes que du nombre total de ces organismes, la combinaison de ces deux actions pouvant fortement amplifier la dépendance. Remarquons que si l'on considère en première approximation la température comme seul facteur de variation, une dépendance exponentielle de l'activité hétérotrophe globale vis à vis de la température peut expliquer les variations observées, comme le montre la figure 2.

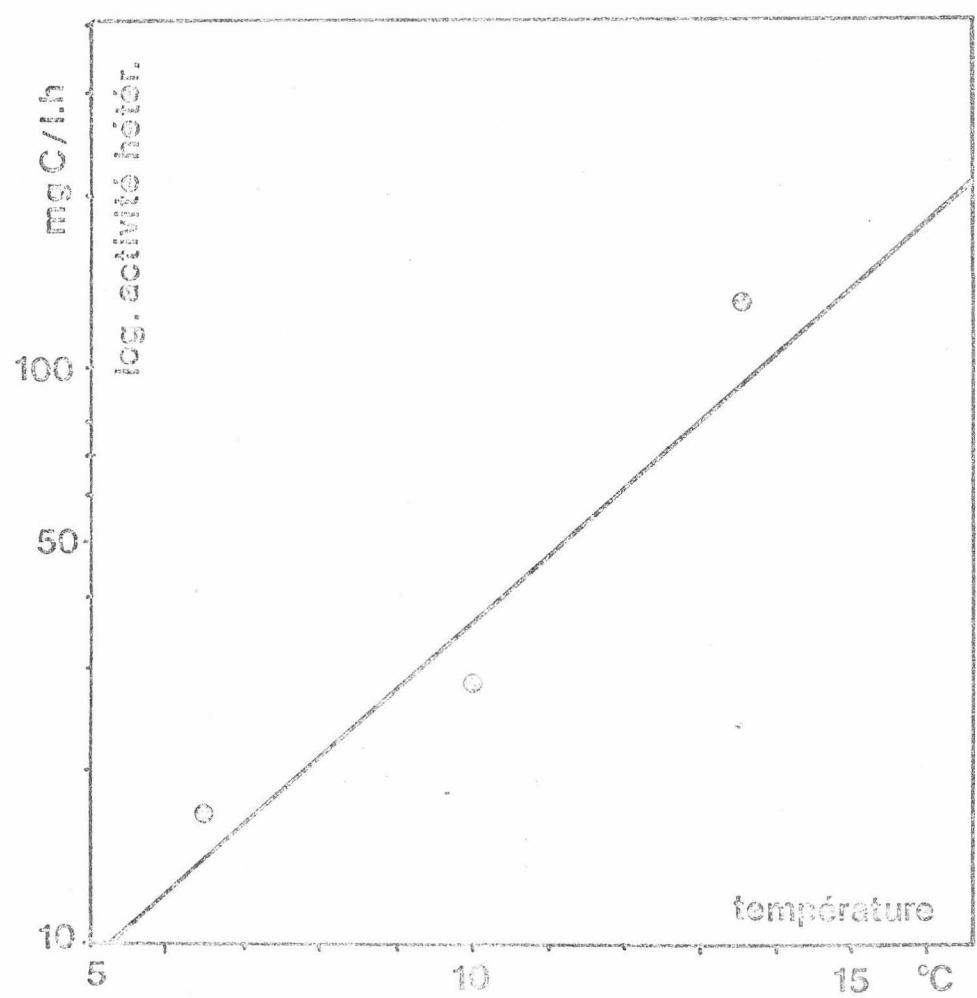


Fig. 2