

Estimation de l'activité des bactéries dénitrifiantes
par chromatographie à phase gazeuse

Alberto TEJERO et Fernando VALLESPINOS

Instituto de Investigaciones Pesqueras, Barcelona (Espagne)

Abstract Gas chromatography was used to analyze the gases released by denitrifying marine bacteria.

Il existe la possibilité que le bilan azoté marin soit lié étroitement aux processus de dénitrification et de fixation de l'azote. Aux cours d'études entreprises sur les processus de dénitrification dans les milieux marins, nous avons décrit un certain nombre de souches bactériennes isolées lors de prospections écologiques et il nous semble important de préciser le métabolisme de ces micro-organismes par des moyens de recherche précis (chromatographie à phase gazeuse).

Pendant l'étude d'une zone d'upwelling (eaux atlantiques proches du littoral nord-ouest africain), nous avons isolé des souches bactériennes capables de croître dans un milieu très riche (VALLESPINOS & TEJERO, sous presse). Nous avons ensuite déterminé en laboratoire l'activité dénitrifiante de toutes ces souches dans un milieu spécifique et en anaérobiosie totale. La source de carbone était l'éthanol et après quinze jours d'incubation à 30°C, nous avons considéré comme positives toutes les souches qui avaient produit une bulle de gaz entre le milieu de culture et le bouchon de vaseline qui donne les conditions d'anaérobiosie aux tubes.

Résultats préliminaires : 5 % environ des souches isolées (plus de 150 de toutes stations et profondeurs) sont dénitrifiantes et beaucoup plus fréquentes dans les eaux profondes, avec une forte teneur en nitrates et basse saturation en oxygène.

Avec la chromatographie à phase gazeuse (colonne de SILICAGEL et POLEULAR SIEVE, à 55°C et avec l'hélium comme gaz porteur - pour la séparation d'O₂, N₂ et CO₂ + N₂O - et colonne de PORAPAK R à 30°C et pour la séparation de N₂ + O₂, NO y N₂O), nous avons confirmé l'activité dénitrifiante par la forte proportion d'azote

dans les bulles. A l'aide d'une souche témoin (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145), nous avons montré que la production de l'azote moléculaire se manifeste dès les premières heures de culture. On constate en effet un maximum de teneur d'azote moléculaire pendant la phase de croissance logarithmique qui diminue par la suite. La production de N_2O poursuit la courbe de croissance, de la culture (détermination de la concentration de protéines). Les souches marines utilisées ne montrent pas de production de N_2O .

Ces études ont abouti aux résultats présentés dans le tableau I. Les caractères morphologiques, biochimiques et la position taxonomique feront l'objet d'une publication ultérieure.

CONCLUSIONS : Nous avons trouvé 5 % de souches bactériennes, isolées du milieu marin, dénitrifiantes vraies et l'étude conduite en laboratoire a montré la production active de gaz par réduction de l'azote minéral.

| Souche | Prof. (m) | NO_3 (μg -at/l) | O_2 (% sat.) | Resp. ($\mu l O_2$ /mgP.h) | Den. ($\mu l N_2$ /mgP.h) |
|--------|--------------|----------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 40 | 20 | 0,03 | 102,35 | 11,48 | 156,62 |
| 112 | 0 | 0,01 | 97,47 | 18,69 | 71,30 |
| 65 | 100 | 13,80 | 55,81 | 22,27 | 43,54 |
| 61 | 200 | 24,58 | 24,60 | 69,77 | 29,37 |
| 60 | 20 | 0,01 | 101,20 | --- | 19,44 |