

ESTIMATION DE LA PRODUCTION DE NO₃⁻ PAR LES SÉDIMENTS DE LA MÉDITERRANÉE NORD-OCCIDENTALE

DÉGRADATION BACTÉRIENNE IN VITRO DU LINDANE EN MILIEU MARIN SÉDIMENTAIRE

R. BARATIE*, F. FERNEX**, Z. MOUREAU*** et R.M. STEVENINO***

G.N. FLATAU, R.L. CLEMENT et M.J. GAUTHIER

I.N.S.E.R.M., Unité 303, 1 avenue Jean Lorrain, Nice (France)

* IGBA, Université de Bordeaux I, Talence (France)
 ** Laboratoire de Géodynamique Sous-Marine, Villefranche-sur-Mer, et Laboratoire de Pétrologie, Université de Nice, Nice (France)
 *** Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, rue Vautier, Bruxelles (Belgique)

Dans la plupart des zones du Plateau continental de la Méditerranée nord-occidentale, les teneurs en nitrates dissous dans les eaux des sédiments superficiels (0-3cm) varient considérablement au cours du temps (Baglinière, 1978; Baglinière et al., 1980). Les teneurs sont fréquemment élevées au printemps, du moins pendant un certain moment du printemps. Par ex., elles ont dépassé 50µM/l dans les eaux des sédiments de la Rade de Villefranche en Avril 1980. Parfois, des teneurs élevées apparaissent à la fin de l'été ou en automne. En été et en hiver elles sont généralement faibles.

Les teneurs en nitrates varient moins dans les niveaux sous-jacents. Cependant les courbes de distributions verticales décroissent souvent de façon irrégulière avec la profondeur. Elles présentent un minimum vers le 5 ou le 6 cm sous l'interface suivi d'un petit maximum vers le 10e ou le 15e cm. Du fait de la respiration des organismes benthiques et de l'oxydation de la matière organique, les niveaux sont d'autant plus pauvres en oxygène qu'ils sont plus profonds. La production du nitrate (nitrification) nécessite la présence de O₂ libre. Lorsque, à partir d'une certaine profondeur sous l'interface, l'oxygène manque, des bactéries peuvent utiliser NO₃⁻ comme accepteur d'électrons.

Pour trouver une explication à l'allure étonnante des courbes de distributions verticales marquées par un minimum vers le 5e cm, nous avons évalué l'activité nitrifiante et l'activité dénitrifiante potentielles en utilisant la méthode décrite par J. Brisou (1982). Un volume déterminé (par ex. 2cm³) de sédiment frais du niveau à étudier est placé dans 50ml. d'une solution riche en un acide aminé, ou en NH₄⁺, ou en NO₃⁻. Après une 20aine d'heures d'incubation on mesure soit les sels azotés (NH₄⁺, NO₃⁻) produits, soit le NO₃⁻ consommé. Ces expériences ont montré que a) la nitrification, intense dans le 1er niveau sous l'interface, peut encore être réalisée plus bas, jusqu'au niveau du 2ème maximum (vers le 15e cm), où O₂ dissous est encore présent en des concentrations non négligeables : env. 2mg/l; b) la dénitrification apparaît la plus forte au niveau du minimum des concentrations en nitrates; elle diminue progressivement d'intensité plus bas. Ainsi, il semble que la valeur des teneurs est essentiellement due à la résultante des 2 activités opposées, plus ou moins intenses selon les niveaux.

Un tel système correspond à un modèle à plusieurs couches de production de nitrates; au moins deux : la couche supérieure à activité nitrifiante souvent intense (et à faible activité dénitrifiante); la couche médiane à faible activité nitrifiante, et à relativement forte activité dénitrifiante. Plus bas, par manque d'oxygène, la nitrification n'est plus possible. Vandenborgh et Billen (1973) n'avaient décrit en détail que des systèmes où seul le niveau supérieur était réellement productif.

Des essais de modélisation pour le Golfe de La Napoule conduisent à des résultats qui cadrent avec ce schéma "multicouche". Pour la modélisation, on part de l'équation de base de la diffusion (2e loi de Fick) où les concentrations C apparaissent comme une fonction du temps t et de la profondeur z (Bernier, 1971)

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(D_s \frac{\partial C}{\partial z} \right) + R(z,t) - k(z,t)C$$

avec les conditions aux bornes et initiales adéquates

Dans cette eq. différentielle, D_s = coefficient de diffusion (ou migration ionique); R(z,t) = fonction de production variable au cours du temps; k(z,t) = coefficient de destruction (ou dénitrification); la destruction est supposée proportionnelle à la concentration.

On ne peut pas utiliser le coefficient de diffusion ionique dans l'eau, parce que les grains de la phase solide ralentissent la migration tandis que la bioturbation et les jeux de l'hydrodynamisme l'accroissent. Dans une première approche on peut admettre des valeurs voisines de 10⁻² cm²/s (Billen, 1977; Kepkay et al., 1981), du moins pour les niveaux les plus superficiels. Les résultats des calculs sont plus modifiés par les changements apportés à la fonction de production que par ceux apportés au coeff. de diffusion entre 10⁻² et 10⁻⁶.

Pour simplifier, nous avons admis que a) le coeff. de diffusion est le même de haut en bas; b) la production, quoique variable au cours du temps, est forte dans les 2 premiers niveaux (0-3cm); c) la dénitrification est la plus forte entre le 4e et le 10e cm.

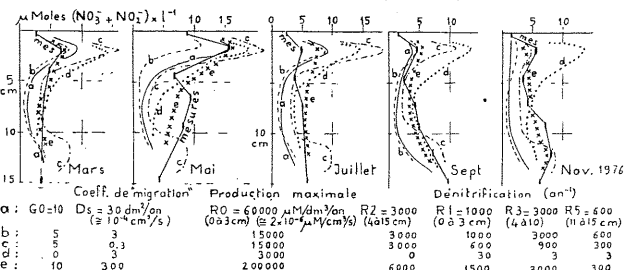
Pour calculer la production (taux de nitrification) et le coeff. de dénitrification, nous avons utilisé le calcul numérique avec la méthode des différences finies. L'équation (1) devient, avec un schéma implicite,

$$\frac{1}{\Delta t} (C_i^{n+1} - C_i^n) = \frac{D_s}{\Delta z^2} (C_{i+1}^n - C_i^n) + R(z,t) - k(z,t)C_i^n$$

avec i = l'un des N points de discrétisation spatiale et n = l'un des N' temps (Nougier, 1983).

L'exemple présenté se rapporte à La Napoule (1976). Les valeurs mesurées correspondent à la moyenne de 4 points situés à des fonds d'environ 60 à 70m. Les mesures n'ont malheureusement pas été faites pour des niveaux plus profonds que le 15e cm au voisinage duquel apparaît le 2e maximum des teneurs. Des approximations sont présentées et comparées avec les courbes mesurées.

Pour les calculs de ces approximations, on est obligé de fixer le coefficient de "dispersion ionique" D_s. Nous ne l'avons pas mesuré. G. Billen (1977), Aller et al. (1983) et d'autres ont proposé des valeurs voisines de 10⁻² cm²/s ou 10⁻⁴ pour les sédiments les plus superficiels, et de 10⁻⁶ pour les niveaux plus profonds. Nous présentons les courbes relatives à quelques essais avec diverses valeurs (de 10⁻² à 10⁻⁶ cm²/s). On peut obtenir une bonne approximation avec un coefficient manifestement trop élevé (par ex. 10⁻²). Dans ce cas, la valeur de la production est aussi surestimée. Par ex., les courbes (e) ont été obtenues avec une productivité Ro = 6x10⁻² µMcm⁻²s⁻¹ (env. 200.000µMdm⁻²an⁻¹) au moins de Mai et de seulement 1,2x10⁻² et 1,5x10⁻² pour les mois de Sept. et de Novembre. Il apparaît que, pour les niveaux superficiels des sédiments, un coefficient de diffusion 10⁻² cm²/s et une production de 10⁻² µMcm⁻²s⁻¹ (pour Mai, le mois le plus "productif") peuvent être retenus. L'essai avec ces valeurs fournirait une image satisfaisante, si ce n'est qu'ici des valeurs de la productivité utilisées pour les représentations de Septembre et d'Octobre ont été nettement trop faibles (env. 5x10⁻² µMcm⁻²s⁻¹).
 Pour les niveaux plus profonds (inf. à 3cm) on peut admettre que la productivité est réduite, soit 10⁻³ à 5x10⁻³ µMcm⁻²s⁻¹ pour un coefficient de "dispersion ionique" de 10⁻² à 5x10⁻³ cm²/s.



In conclusions, la productivité des sédiments du Plateau continental méditerranéen varie considérablement au cours du temps. Lorsque l'activité nitrifiante est la plus élevée (au printemps) les valeurs de la nitrification sont comparables à celles de sédiments d'autres mers; Aller et al. (1983) ont obtenu des valeurs supérieures à 10⁻² µM/cm²/s pour des sédiments de la Mer de Chige; Vandenborgh et Billen (1973) et Billen (1977) citent des valeurs comprises entre 10⁻² et 10⁻³ µM/cm²/s pour la Mer du Nord. Mais dans ces deux cas, la productivité semble se maintenir à ces niveaux relativement élevés de façon beaucoup plus permanente qu'en Méditerranée nord-occidentale.

ALLER R., MACKIN J., ULLMAN W., CHEN-HOU W., SMING-MIN T., JIAN-CAI J., YONG-NIAN S., JIA-ZHEN H., 1985 - Continental Shelf Research, 4, 1-2, 227-251.
 BAGLINIERE C., 1978 - Thèse 3e Cycle, Univ. Paris VI, 118p.
 BAGLINIERE C., CENCIARINI J., FERNEX F., PUCCI R., YAUSSIERE R., 1980 - Progr. Water Techn., 12, 1, Pergamon Pr., 79-87.
 BARATIE R., 1986 - Thèse 3e Cycle (Océanogr.), Univ. Bordeaux I, 173p.
 BERNIER R.A., 1971 - Mac Grow Hill, Internat. S in the Earth Sc., Frank Pr., 240p.
 BILLEN G., 1977 - Thèse, Univ. Libre Bruxelles.
 BRISOU J., 1982 - Annales Inst. Michel Pacha, Toulon, 13, 36-46.
 KEPKAY P., COOKE R., BOWEN A., 1981 - Geochimica et Cosmochimica Acta, 45, Nougier J.P., 1983 - Masson, Paris.
 VANDENBORGH J.P., BILLEN G., 1975 - Limnology and Oceanography, v.20(6), 953-961.

Le lindane ou γHCH a été utilisé extensivement pour limiter le développement d'animaux nuisibles à la santé ou à l'activité humaine. Mais son emploi a dû être très sévèrement réglementé et même interdit dans certains pays à cause de la résistance développée par certains organismes et de sa forte toxicité vis-à-vis, à court terme et à long terme, de la faune et de l'homme qui épand ce pesticide et qui consomme les produits souillés. Ce produit xénobiotique chloré particulièrement stable s'adsorbe sur les particules en suspension (Crosby, 1973). Dans le milieu marin, après décantation ou plus ou moins rapide, le lindane est accumulé sur le sédiment marin. Les micro-organismes présents peuvent alors le fixer (par adsorption ou par absorption), et éventuellement le dégrader (Ware et Roan, 1970; Valentine et Bingham, 1974). Le but de ce travail était de décrire l'évolution du lindane en contact avec un sédiment naturel abiotique ou préalablement ensemencé de souches bactériennes pouvant dégrader ce pesticide.

Quatre souches pures métabolisant le lindane isolées au cours de campagnes précédentes ont été utilisées en population mixte : deux pseudomonadacées et une vibronacée, isolés dans des sédiments de la Rade de Villefranche-sur-mer (Alpes-Maritimes, France) et une corynébactérie isolée dans des sédiments du delta du Var (Alpes-Maritimes, France).

L'inoculum a été préparé en cultivant chaque souche isolément pendant 24 h sur milieu Marine Agar (Difco) contenant 50 mg de lindane par litre puis en récoltant les cellules dans de l'eau de mer stérile, utilisée ensuite pour inoculer les sédiments. La population microbienne totale a été préparée à partir d'un sédiment naturel prélevé sur le Delta du Var. Ce sédiment à forte concentration bactérienne (2 à 3.10⁵ UFC/g de sédiment sec) a été mis en suspension dans de l'eau de mer (50 g/100 ml), agité énergiquement pendant quelques minutes puis rapidement décanté. Le surnageant a été utilisé pour inoculer les sédiments.

Le sédiment (sable vaseux prélevé le long du littoral à Cros-de-Cagnes, Alpes-Maritimes, France) a été homogénéisé, séché à 30°C et réparti dans des cristallisoirs de 2 litres sur une épaisseur d'environ 3 cm (600 g), puis imprégné d'une solution hexanique de lindane (500 mg de lindane/g de sédiment). Le solvant a été éliminé par évaporation. Cette méthode a permis de contenir le sédiment par le pesticide d'une manière homogène. Ce sédiment a été ensuite inoculé, soit par les souches pures (concentration finale comprise entre 2 et 5.10⁵ cellules/ml), soit par la population totale (6.10⁴ cellules/ml) seule ou en présence de 1 g de peptone par litre. Un sédiment chargé en lindane uniquement a servi de témoin axène. Chaque sédiment a été recouvert par 2 cm d'eau de mer stérile. Les microcosmes sédimentaires ont été incubés à 25°C pendant environ 45 jours. Des échantillons moyens de 5 grammes (correspondant au mélange de 5 prélèvements dans chaque récipient) ont été collectés après 0, 3, 6, 12, 20 et 42 jours d'incubation. Les échantillons ont été desséchés par 6 à 7 grammes de sulfate de sodium anhydre, puis le lindane a été extrait par 15ml d'hexane. Le sédiment a été à nouveau traité 3 fois par 5 ml du même solvant. Les fractions hexaniques ont été réunies et additionnées de 2 ml d'acide sulfurique concentré, agitées et centrifugées (5000 g, 15 min., 10°C). 0,5 ou 1 µl du surnageant a été injecté dans un chromatographe en phase gazeuse (Carlo-Erba 2200 P) dans les conditions suivantes : température du four : 180°C ; température du détecteur (⁶³Ni) : 250°C ; pression N₂ 00 : 1,8b ; colonne : OV101, 10 % Z, 2 m.

La couche d'eau de mer maintenue à la surface du sédiment était suffisamment mince (2 cm) pour assurer une bonne oxygénation du sédiment

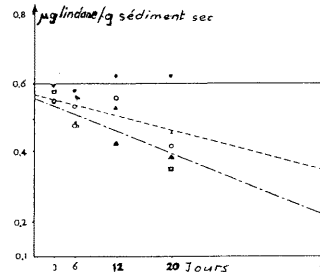


Fig. 1 : Disparition du lindane (µg/g) au cours du temps (j), en milieu abiotique (●) ; en présence de souches pures sans peptone (○) et avec peptone (△) ; en présence de la population totale sans peptone (▲) et avec peptone (◐).

Les résultats montrent que le lindane n'était pas dégradé d'une manière significative en milieu abiotique pendant la durée de l'expérience, démontrant ainsi une nouvelle fois sa stabilité chimique. Par contre, en présence de souches bactériennes dégradant, le lindane a disparu à la vitesse de 3 µg/j, soit 126 µg pendant 42 jours correspondant à 36 % de la quantité initiale déposée dans le sédiment. En présence de peptone, la vitesse de disparition était de 5 µg/j, soit 210 µg pendant 42 jours correspondant à 63 % de la quantité initiale. Cette dégradation plus importante en présence de peptone pouvait être due à un meilleur développement bactérien dans le sédiment ou à un phénomène de co-métabolisme. Les micro-organismes peuvent en effet dégrader le lindane plus ou moins partiellement (déchloration, isomérisation...) sans être utilisés comme substance de croissance (Lal et Saxena, 1982). Aucune trace de l'isomère α n'est cependant apparue au long de cette expérience. Fournier et Catroux (1980) ont signalé que l'étude "in vitro" de la dégradation des pesticides par des souches bactériennes en présence d'une source de carbone supplémentaire peut être un élément essentiel pour caractériser leur biodégradabilité.

Ce travail montre donc que ce pesticide peut être dégradé d'une manière non négligeable dans les sédiments marins aérobie, et que la présence de matière organique favorise très significativement cette biodégradation.

- CROSBY D.G., 1973 - The fate of pesticides in the environment. Ann. Rev. Plant. Physiol., 24 : 467-492.
 - EDWARDS C.A., 1974 - Persistent pesticides in the environment. 2nd Edit. C.R.C. Monocseries Series, Butterworth, London.
 - FOURNIER J.C. & CATROUX C., 1980 - L'utilisation de souches de micro-organismes de collection pour l'étude de la biodégradabilité des pesticides. Chemosphere, 9 : 33-38.
 - FRANK P.A., 1970 - Degradation and effects of herbicides in water. In : F.A.O. International Conference on Weed Control. Weed Sci. Soc. Am., 539-559.
 - GERAKIS P.A. & SFICAS A.C., 1974 - The presence and cycling of pesticides in the ecosystem. Residue Res., 32 : 69-87.
 - LAL R. & SAXENA D.M., 1982 - Accumulation, metabolism and effects of organochlorine insecticides on micro-organisms. Microbiol. Rev., 46 : 95-127.
 - SIDDEREMAPPA R. & SETHUNATHAN N., 1975 - Persistence of γ-HCH in indian rice soils under flooded conditions. Pestic. Sci., 6 : 395-403.
 - VALENTINE J.P. & BINGHAM S.W., 1974 - Influence of several algae on 2,4,-D residues in water. Weed Sci., 22 : 358-363.
 - WARE G.W. & ROAN C.C., 1970 - Interaction of pesticides with aquatic micro-organisms and plankton. Residue Rev., 23 : 15-45.