



**HAL**  
open science

# MÉTHODE D'ESTIMATION DU POUVOIR DÉNITRIFIANT DES EAUX ET DES SÉDIMENTS MARINS

Edmond Lagarde

► **To cite this version:**

Edmond Lagarde. MÉTHODE D'ESTIMATION DU POUVOIR DÉNITRIFIANT DES EAUX ET DES SÉDIMENTS MARINS. Vie et Milieu , 1964, pp.213-218. hal-02938616

**HAL Id: hal-02938616**

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-02938616v1>

Submitted on 15 Sep 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# MÉTHODE D'ESTIMATION DU POUVOIR DÉNITRIFIANT DES EAUX ET DES SÉDIMENTS MARINS

par Edmond LAGARDE

L'étude du métabolisme azoté des bactéries dénitrificatrices et réductrices des composés oxygénés de l'azote minéral a fait l'objet de nombreux travaux, mais les méthodes d'appréciation écologique de ces phénomènes sont rares, et présentent quelquefois de sérieuses difficultés expérimentales. ALLEN et VAN NIEL (1952) utilisent une méthode manométrique au Warburg, adaptée parfaitement aux études de souches pures, mais peu applicable en écologie.

La technique que nous décrivons ici est inspirée par celles préconisées par de BARJAC (1952) et POCHON (1954). Elle s'en différencie cependant sensiblement, par le fait que nous utilisons d'autres données, et surtout parce qu'elle aboutit en définitive à l'établissement d'un véritable « coefficient de dénitrification ».

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les eaux ou les sédiments, dilués selon la technique habituelle, sontensemencés, soit dans le milieu décrit lors d'une communication antérieure (LAGARDE, 1962), soit dans un milieu de composition suivante :

Eau de mer vieillie .....	250 à 750 ml. (1)
Eau distillée .....	750 à 250 ml.
Nitrate de Potassium .....	1 gr.

(1) La salinité finale du milieu de culture est établie en fonction des conditions existant dans le biotope prospecté.

Phosphate ferrique .....	0,500 gr.
Glucose ou Mannite .....	5 gr.
Solution d'oligo-éléments ....	10 gouttes.
Bacto-Peptide Difco .....	0,500 gr.
Bacto-Yeast-Extract Difco ...	0,500 gr.

pH : 7,6.

Ce milieu est réparti en tubes pyrex de  $20 \times 200$  mm dans lesquels on place au préalable 200 mg environ de carbonate de calcium et un petit tube retourné qui servira à apprécier la production de gaz lors de la culture. On stérilise 20 minutes à  $115^{\circ}$  C.

On distribue 0,5 ml de chaque dilution (de  $10^{-1}$  à  $10^{-10}$  en principe) dans 2 tubes de culture. Les conditions d'anaérobiose requises pour la dénitrification sont réalisées, soit par l'emploi du mélange acide pyrogallique - carbonate de soude, soit par l'incubation des cultures en dessiccateur, sous atmosphère d'hydrogène. La température d'incubation est variable selon l'origine des échantillons; nous incubons en principe à  $20 - 23^{\circ}$  C nos prélèvements méditerranéens.

Les 3<sup>e</sup>, 6<sup>e</sup>, 12<sup>e</sup>, 18<sup>e</sup> et 30<sup>e</sup> jours, on prélève dans une série de tubes 1 ml de culture que l'on répartit dans 2 tubes à hémolyse. La disparition des nitrates est recherchée dans le premier tube, l'apparition des nitrites dans le second.

#### a. Disparition des nitrates

Les nitrates sont recherchés par la méthode préconisée par de BARJAC (1952). On élimine tout d'abord les nitrites par l'urée et l'acide sulfurique, puis on recherche les nitrates par le réactif à la diphénylamine sulfurique. On note à chaque estimation le dernier tube contenant encore du nitrate.

#### b. Apparition des nitrites

La technique de RIDER et MELLON (1946) a été utilisée pour ces déterminations. On note ici le premier et le dernier tube contenant des nitrites.

Les résultats des mises en évidence des nitrates et des nitrites sont consignés sous forme de tableau (Tableau 1). En fin de culture, on note également la présence éventuelle de gaz dans les cloches.

Nous avons également recherché systématiquement l'apparition d'ammoniaque dans les cultures, mais lors de la détermination du « coefficient de dénitrification », nous ne tiendrons pas compte de cette information. En effet, la courbe de disparition des nitrates, l'aire des nitrites et la formation de gaz nous semblent suffisamment représentatifs du processus de dénitrification. De plus, la formation

TABLEAU 1

Jours		Dilutions									
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>
3	NO3	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	NO2	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
6	NO3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	NO2	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
12	NO3	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	NO2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
18	NO3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	NO2	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
30	NO3	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	NO2	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Gaz	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

d'ammoniaque elle-même ne peut être considérée comme absolument significative (THOMAS, 1946).

Les résultats sont ensuite transcrits sous forme de graphique (fig. 1) :

On note alors :

- l'aire des nitrates,
- l'aire des nitrites,
- la dilution extrême présentant du gaz,
- la dilution extrême atteinte lors de la culture,
- la durée totale de l'expérience.

Ces divers éléments servent à établir la relation suivante :

$$\frac{\text{Aire (NO}_3 + \text{NO}_2) - (\text{Dilution extrême Gaz} \times \text{K})}{\text{Dilution extrême culture} \times \text{Jours incubation}} = \text{Coefficient de dénitrification}$$

Nous avons attribué à K la valeur numérique de 5, qui, dans les conditions de nos expériences, semble convenir le mieux à l'établissement du coefficient.

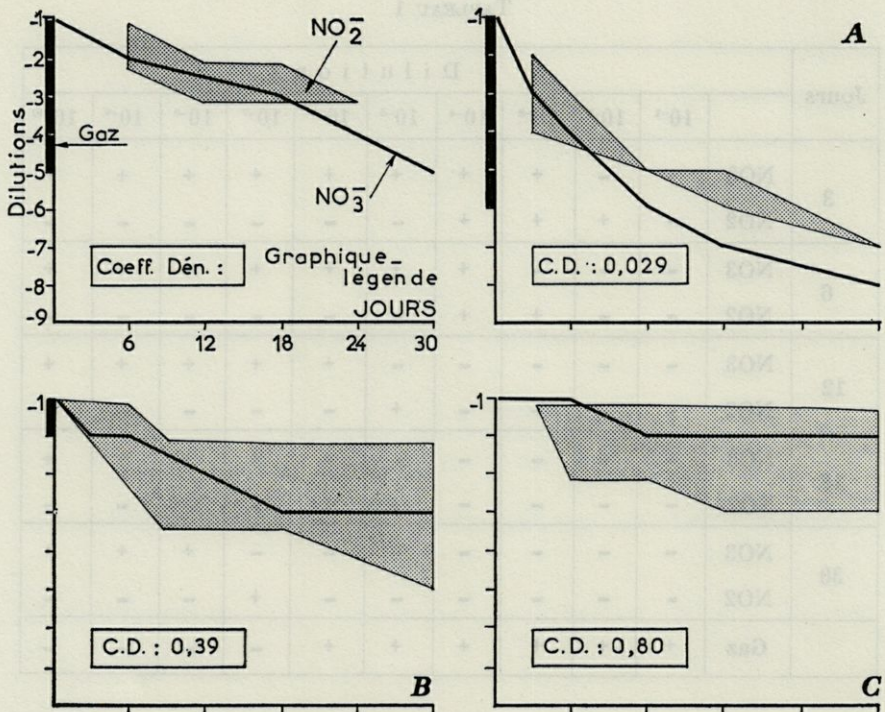


FIG. 1. — Représentation graphique du pouvoir dénitrifiant de 3 horizons sédimentaires saumâtres et marins : A, pouvoir dénitrifiant très élevé (C.D. = 0,029) ; B, pouvoir dénitrifiant moyen (C.D. = 0,39) ; C, pouvoir dénitrifiant faible (C.D. = 0,80).

## RÉSULTATS

La comparaison de nombreux graphiques, résultats d'expérimentations répétées en milieu marin ou lagunaire, nous a montré que les valeurs de ce coefficient de dénitrification pouvaient être interprétées comme suit :

Pouvoir dénitrifiant très élevé	.....	0	< CD < 0,10
»	»	élevé	..... 0,10 < CD < 0,25
»	»	moyen	..... 0,25 < CD < 0,40
»	»	faible	..... 0,40 < CD < 0,85
»	»	très faible	.... 0,85 < CD

Les graphiques de la figure 1 illustrent ainsi parfaitement le pouvoir dénitrifiant des échantillons examinés :

— Le prélèvement correspondant au graphique A avait été effectué à l'interface eau-sédiment d'une station lagunaire hautement polluée, riche en matériel organique. Cette station, que nous suivons régulièrement depuis plus d'une année, a toujours été trouvée peuplée d'une microflore dénitrificatrice abondante et très active.

— Le graphique B est la représentation d'un pouvoir dénitrifiant moyen. Il correspond à une étude faite sur un horizon marin sableux, stable.

— Le graphique C représente le pouvoir dénitrifiant d'un horizon sursalé de mangrove, où les populations microbiennes sont spécialement peu nombreuses et peu actives.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN, M.B. et VAN NIEL, C.B., 1952. — Experiments on bacterial denitrification. *J. Bact.*, 64, p. 397-412.
- BARJAC H. de, 1952. — Puissance dénitrificatrice du sol. Mise au point d'une technique d'évaluation. *Ann. I. Past.*, 83, 207.
- LAGARDE, E., 1962. — Contribution à l'étude du métabolisme de l'azote minéral en milieu marin. Microflore dénitrifiante de certaines zones littorales méditerranéennes. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, 32, suppl. 490-496.
- POCHON, J., 1954. — Manuel technique d'analyse microbiologique du sol. Masson et Cie, éd., Paris.
- RIDER, B.F. et MELLON, M.G., 1946. — Colorimetric determination of nitrites. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 18, 96-99.
- THOMAS, P., 1946. — Manuel de Biochimie. Masson et Cie, éd., Paris.

Les graphiques de la figure 1 illustrent ainsi parfaitement le pouvoir dénitrifiant des échantillons examinés :

— Le prélèvement correspondant au graphique A avait été effectué à l'intérieur sans-écoulement d'une station lagunaire hautement polluée, riche en matériel organique. Cette station, que nous suivons régulièrement depuis plus d'une année, a toujours été trouvée peuplée d'une microflore dénitrificatrice abondante et très active.

— Le graphique B est la représentation d'un pouvoir dénitrifiant moyen. Il correspond à une étade faite sur un horizon marin sédiments stable.

— Le graphique C représente le pouvoir dénitrifiant d'un horizon non saturé de matière, où les populations microbienne sont spécialement peu nombreuses et peu actives.

### BIBLIOGRAPHIE

ALLEN, M. B. et VAN NIEU, C. B., 1952. — Experiments on bacterial denitrification. *A. Soil*, 64, p. 397-412.

DANIEL, H. de, 1952. — Puissance dénitrificatrice du sol. Mise au point d'une technique d'estimation. *Ann. A. P. S.*, 83, 207.

LACROIX, E., 1952. — Contribution à l'étude du métabolisme de l'azote minéral en milieu marin. Microflore dénitrifiante de certaines zones littorales méditerranéennes. *Publ. Stat. Zool. Napoléon*, 22 suppl. 100-130.

POISSON, J., 1954. — Manuel technique d'analyse microbiologique du sol. Masson et Cie, éd., Paris.

RUSSO, R. P. et MURRAY, M. G., 1948. — Colorimetric determination of nitrites. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 20, 96-98.

THOMAS, P., 1946. — Manuel de Biochimie. Masson et Cie, éd., Paris.