

Dénitrification, sulfato-réduction et méthanogenèse dans les sédiments superficiels d'un étang saumâtre méditerranéen

Respiration du nitrate
Dénitrification
Sulfato-réduction
Méthanogenèse
Sédiments anoxiques

Nitrate-respiration
Denitrification
Sulfate-reduction
Methanogenesis
Anoxic sediments

Danielle MARTY ^a, Gilles ESNAULT ^b, Pierre CAUMETTE ^b, Eulalie RANAIVOSON-RAMBELOARISOA ^c, Jean-Claude BERTRAND ^c

^a Laboratoire de Microbiologie Marine, Centre National de la Recherche Scientifique, UPR, 223, Faculté des Sciences de Luminy, Case n° 907, 13288 Marseille Cedex 9.

^b Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences de Saint-Jérôme, Case n° 452, 13397 Marseille Cedex 13.

^c Centre d'Océanologie, Centre National de la Recherche Scientifique, URA n° 41, Université d'Aix - Marseille-II, Case n° 901, 13288 Marseille Cedex 9.

Reçu le 12/1/89, révisé le 26/6/89, accepté le 31/7/89.

RÉSUMÉ

Les activités de réduction du nitrate, de dénitrification, de sulfato-réduction et de méthanogenèse ont été étudiées dans les sédiments superficiels d'un étang saumâtre méditerranéen (étang de Berre), au cours de six missions effectuées entre février 1985 et juillet 1986. Que ce soit dans la zone dessalée de l'étang ou dans la zone sous influence marine, les sédiments, riches en sulfure et en matière organique, sont anoxiques dès l'interface, permettant le développement simultané de communautés bactériennes réduisant le nitrate, réduisant le sulfate et produisant du méthane. Les effectifs des différents groupes bactériens sont stables au cours du temps, contrairement à leurs activités respectives, lesquelles sont fortement influencées par les variations de certains facteurs physico-chimiques, en particulier la température.

La sulfato-réduction, qui correspond à la réduction de 95 à 137 μ moles de sulfate par litre de sédiment et par jour en saison froide (6-10°C), et 362 à 392 μ moles de sulfate en saison chaude (18-20°C), constitue toujours l'activité bactérienne prédominante. Cette activité n'est jamais limitée par les teneurs en sulfate du sédiment, mais semble régulée par la quantité de matière organique accessible aux bactéries sulfato-réductrices. La respiration du nitrate permet la réduction de 4 à 9 μ moles de nitrate par litre de sédiment et par jour en période hivernale, et 17 à 43 μ moles de nitrate en période estivale, la dénitrification « vraie » contribuant pour moins de 20 % à la totalité du nitrate réduit; ces deux activités sont fortement limitées par les faibles teneurs en nitrate du sédiment. La méthanogenèse apparaît comme l'activité bactérienne la plus subordonnée à la température, les bactéries méthanogènes produisant 0,04 à 0,15 μ moles de méthane par litre de sédiment et par jour en saison froide, et 8 à 40 μ moles de méthane en saison chaude. Dans la production globale de méthane, la voie méthylo-trophique domine nettement la respiration carbonate et la réaction acétoclastique.

Oceanologica Acta, 1990, 13, 2, 199-210.

ABSTRACT

Denitrification, sulphate reduction and methanogenesis in the upper sediments of a Mediterranean coastal lagoon

Nitrate-reduction, denitrification, sulphate-reduction and methanogenesis were measured in the superficial sediments of a Mediterranean coastal lagoon (Etang de Berre), during six sampling cruises, between February 1985 and July 1986. In the oligohaline and marine areas of the lagoon alike, the sediments, rich in sulfate and organic matter, were always anoxic from the water-sediment interface downwards, thus favouring simultaneous growth of the different bacterial communities reducing nitrate, reducing sulfate or producing methane. Bacterial counts of the different communities remained invariable throughout the sampled period, in contrast with the respective bacterial

activities, which were highly influenced by changes in some physical and chemical parameters, particularly temperature.

Sulfate-reduction, varying from 95-137 μ moles of sulphate reduced per litre of sediment per day in winter (6-10°C), to 362-392 μ moles in summer (18-20°C), was subject to the organic material available for sulfate-reducing bacteria, whereas sulfate amounts were never a limiting factor. Nitrate respiring bacteria accounted for a reduction ranging between 4-9 μ moles of nitrate per litre of sediment per day during winter, and 17-43 μ moles during summer; "true" denitrification never contributed more than 20% to the total reduced nitrate. Both nitrate respiration and denitrification were, to a great extent, limited by the very low availability of nitrate in the sediment. Methanogenesis appeared to be the most temperature dependent activity: 0.04-0.15 μ moles of methane were produced per litre of sediment per day in winter, and 8-40 μ moles in summer. In the methane-producing process, the methylo-trophic pathway was clearly dominant over carbonate respiration or acetoclastic reaction.

Oceanologica Acta, 1990. 13, 2, 199-210.

INTRODUCTION

Dans les milieux lagunaires, qui sont, par définition, des zones de transition entre habitats continentaux et habitats marins, l'accumulation de matière organique, apportée par les effluents ou produite *in situ*, peut provoquer une eutrophisation des eaux, voire l'apparition de crises dystrophiques (Caumette, 1989). Dans ces zones de forte productivité, la faible hauteur de la colonne d'eau ne permet pas une minéralisation complète de la matière organique au cours de son transit, et une importante fraction du carbone organique particulaire se dépose à la surface du sédiment. Cette affluence de matière organique provoque un développement massif des populations bactériennes, et les sédiments, devenus d'importants sites de minéralisation détritique, sont généralement anaérobies et réduits, pouvant comporter une fine couche superficielle oxygénée (Fenchel et Jørgensen, 1977). Au moins potentiellement, une partie considérable de la minéralisation du carbone organique est donc réalisée dans des conditions anaérobies plutôt qu'aérobies (Nedwell, 1984).

Dans la couche superficielle oxydée, le métabolisme respiratoire aérobie prédomine, son importance globale est fonction de la diffusion de l'oxygène dans le sédiment, dont la pénétration n'excède pas quelques millimètres dans les sédiments lagunaires contenant de fortes teneurs en matière organique (Jørgensen, 1983). Dans les strates anoxiques, la dégradation anaérobie de la matière organique correspond à un flux d'énergie entre différentes communautés bactériennes *via* des métabolites intermédiaires extra-cellulaires, et est dépendante de l'action concertée de populations bactériennes aux activités complémentaires (Marty *et al.*, 1989). L'importance relative des divers groupes trophiques impliqués est tributaire de l'efficacité de leur métabolisme énergétique et de la disponibilité des composés organiques ou inorganiques, susceptibles d'intervenir en tant qu'accepteurs d'électrons (Atlas, 1984). La chaîne détritique anaérobie peut être grossièrement divisée en trois étapes (Bryant, 1979) : (1) l'hydrolyse du matériel polymérique en monomères par des

enzymes extra-cellulaires excrétées par des bactéries fermentatives; (2) la fermentation de ces monomères jusqu'au stade acides organiques à courtes chaînes, alcools, H₂ et CO₂; (3) la conversion finale de ces divers composés en produits inorganiques par différents processus métaboliques, essentiellement la dénitrification, la sulfato-réduction et la méthanogenèse.

Ce sont ces trois métabolismes bactériens, dénitrification, sulfato-réduction et méthanogenèse, impliqués dans les étapes ultimes de la minéralisation anaérobie de la matière organique, qui ont été étudiés dans les sédiments superficiels de l'étang de Berre, bassin saumâtre en communication avec les eaux méditerranéennes, situé à une quarantaine de kilomètres au nord-ouest de Marseille. Écosystème particulièrement instable, cet étang semi-fermé, qui oscille entre la situation « estuaire » et la situation « lagune », suivant l'importance des arrivées d'eaux douces, est réputé pour l'eutrophie de ses eaux et le caractère spectaculaire des crises dystrophiques que l'on y observe (Minas *et al.*, 1976; Beker, 1986). Notre objectif a été de mettre en évidence la présence des populations bactériennes impliquées dans ces métabolismes et de quantifier leurs activités. De façon à analyser l'influence marine ou continentale sur l'abondance des différents peuplements bactériens et leurs activités, des études ont été menées en parallèle dans la zone sud de l'étang, qui communique avec la mer, et dans la zone nord où débouchent les eaux douces.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Description du site (fig. 1)

L'étang de Berre (superficie : 15 000 ha; longueur maximale : 20 km; largeur maximale : 7 km; profondeur moyenne : 6 m) a vu ses structures hydrologiques, sédimentologiques et biologiques fortement perturbées à la suite des travaux d'aménagement de la vallée de la Durance, qui ont abouti, en 1966, au déversement des eaux duranciennes par le canal de Saint-Chamas,

sur la rive nord de l'étang. Les apports massifs et intermittents d'eaux douces, avec un débit annuel pouvant représenter cinq à six fois le volume de l'étang (Kim, 1988), ont entraîné la dessalure d'une grande partie de l'étang, dont la salinité, qui était stabilisée autour de 3 ‰ avant 1966 (Minas, 1976), fluctue aujourd'hui entre 0,3 et 2,8 ‰. Les quantités de matière organique et minérale apportées permettent la prolifération d'importantes communautés micro-algales qui se développent dans tout l'étang; pouvant atteindre quelques dizaines de millions de cellules par litre (Becker, 1986), elles assurent un flux quasi permanent de matériel minéralisable vers le fond de l'étang. Étant donnée la faible hauteur de la colonne d'eau, une fraction importante de ce matériel atteint le sédiment, où sa dégradation par les populations bactériennes provoque la consommation de l'oxygène et l'établissement de conditions anoxiques dès la surface du sédiment. Actuellement, l'écosystème a retrouvé un nouvel équilibre, avec subdivision de l'étang en deux zones, Nord et Sud.

La zone Nord (profondeur 5-6 m), où se déversent les quatre principaux cours d'eau, joue le rôle de bassin de décantation. Les arrivées d'eaux de la Touloubre, la Durançole et l'Arc sont devenues négligeables par rapport à la dérivation des eaux de la Durance dont le débit fluctue fortement, suivant les phases de rejet et de retenue de la centrale hydro-électrique de Saint-Chamas (Kim, 1982). Dans cette zone, la colonne d'eau, de salinité faible, est généralement oxygénée et homogène sur toute sa hauteur.

La zone Sud (profondeur 9 m) communique avec le

golfe de Fos par l'étroit canal de Caronte. Les eaux à basse salinité s'échappent en surface, alors que les eaux marines pénètrent à contre-courant en profondeur. Les différences de salinité entre l'épilimnion et l'hypolimnion provoquent une stratification des eaux, avec apparition d'une pycno-halocline, s'accompagnant d'une thermocline plus ou moins accusée. La stratification des eaux, en limitant la sédimentation des particules, autorise, en période estivale, un développement bactérien pélagique suffisant pour entraîner l'apparition d'une couche d'eau profonde anoxique, qui confère à cette partie de l'étang toutes les caractéristiques d'un système stratifié pollué par dystrophie organique.

Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués au cours de six missions, échelonnées entre février 1985 et juillet 1986, dans deux stations: la station 1 (profondeur 9 m), située dans la cuvette méridionale, est soumise aux influences marines; la station 2 (profondeur 5 m), située dans la partie nord de l'étang, est sous l'influence du canal de dérivation de la Durance. Le sédiment a été prélevé en plongée, à l'aide de carottiers de plexiglass, et l'eau au moyen d'une pompe péristaltique.

Analyses physiques et chimiques

Dans l'eau, la température, la salinité, l'oxygène dissous et le potentiel d'oxydo-réduction ont été mesurés immédiatement à bord, à l'aide d'un salinomètre (YSI 33), un oxymètre (YSI 58) et un pH/mVmètre (Schott CG817T) équipé d'une électrode redox en platine.

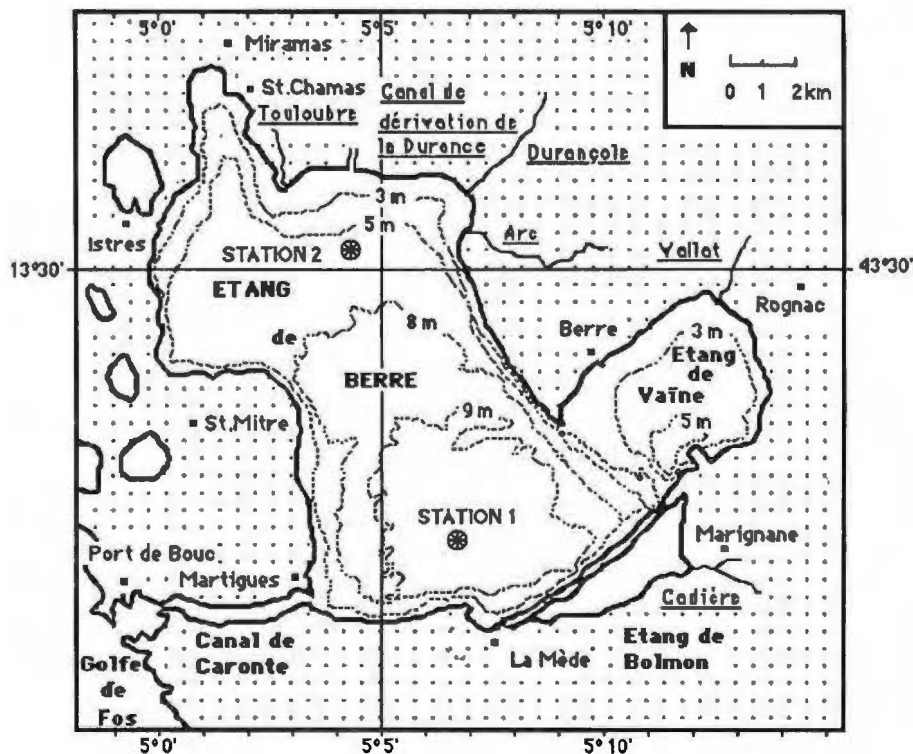


Figure 1

Principaux traits géographiques et bathymétriques de l'étang de Berre; emplacement des deux stations de prélèvement.

Main geographic and bathymetric features of Etang de Berre; location of the two sampling stations.

Dans les niveaux 0-2 et 2-4 cm du sédiment, les divers paramètres ont été déterminés :

– Le potentiel d'oxydo-réduction a été mesuré avec un pH/mVmètre Schott CG817T équipé d'une électrode redox à pénétration.

– Les différents composés azotés inorganiques ont été dosés après centrifugation du sédiment à $2\,000 \times g$. Le nitrate a été dosé après réduction en nitrite sur une colonne de cuivre-cadmium montée sur un système Technicon II (Strickland et Parsons, 1968), le nitrite, selon la technique colorimétrique décrite par Benschneider et Robinson (1952), et l'ammonium selon la technique colorimétrique de Slawyk et MacIsaac (1972), après extraction avec KCl 0,5 M et centrifugation à $2\,000 \times g$.

– Le dosage des sulfates a été réalisé par mesure turbidimétrique, après précipitation par le chlorure de baryum (American Public Health Association, 1971). La concentration en sulfate est ensuite calculée en fonction des valeurs de salinité *in situ* (Horne, 1969).

– Les sulfures acido-volatils ont été dosés par distillation acide sous courant d'azote, après fixation des échantillons dans l'acétate de zinc (Jørgensen et Fenchel, 1974; Caumette, 1985); l'hydrogène sulfureux, recueilli par barbotage dans l'acétate de zinc, a été dosé par la méthode colorimétrique de Cline (1969).

Analyses bactériologiques : dénombrements bactériens

Les dénombrements ont été réalisés à partir de la même suspension de sédiment :

– Les bactéries hétérotrophes aérobies ont été dénombrées par comptage des colonies sur milieu 2216E (Oppenheimer et Zobell, 1952).

– La microflore effectuant la respiration nitrate a été estimée, en jarres anaérobies, sous atmosphère H_2/CO_2 : 80/20, sur un milieu gélosé contenant du lactate (1 g.l^{-1}), de l'acétate (1 g.l^{-1}) et du succinate (1 g.l^{-1}) (Ranaivoson-Rambeloarisoa, 1988).

– Les bactéries hétérotrophes anaérobies ont été dénombrées en milieu liquide, selon la technique du MPN, en ensemençant trois tubes par dilution, dans un milieu préparé selon la technique de Hungate (1969), contenant de la peptone (5 g.l^{-1}) et des extraits de levure (5 g.l^{-1}), sous atmosphère N_2/CO_2 : 80/20 (Marty, 1983); les tubes positifs sont ceux qui présentent un trouble bactérien.

– Les bactéries sulfato-réductrices ont été dénombrées selon la méthode du MPN, dans un milieu liquide contenant du lactate (10 mM) et de l'acétate (10 mM; Pfennig *et al.*, 1981), sous atmosphère N_2/CO_2 : 90/10, pour NaCl $1,2\text{ g.l}^{-1}$ et 20 g.l^{-1} . La production de sulfure est mise en évidence par la formation d'un précipité brun de CuS, après addition de quelques gouttes d'une solution de $CuSO_4/HCl$ (5 mM/50 mM; Caumette, 1986).

– Les bactéries méthanogènes ont été dénombrées selon la technique du MPN dans un milieu liquide contenant, soit du formate (5 g.l^{-1}) sous atmosphère H_2/CO_2 : 80/20 (Marty et Garcin, 1987), pour les bactéries méthanogènes effectuant la respiration du carbo-

nate, soit de l'acétate (5 g.l^{-1}), du méthanol (5 ml.l^{-1}), et de la triméthylamine (TMA : 30 %, 12 ml.l^{-1}), sous atmosphère N_2/CO_2 : 80/20, pour les bactéries acétoclastiques et méthylotrophes. Après incubation, les tubes positifs sont ceux dont l'atmosphère contient du méthane, lequel est détecté par chromatographie gazeuse à catharomètre (Packard 427; colonne Carbosieve B; température du four $70^\circ C$, de l'injecteur $120^\circ C$, du détecteur $170^\circ C$; gaz vecteur hélium).

Analyses bactériologiques : activités bactériennes

Les activités de réduction du nitrate, de dénitrification, de sulfato-réduction et de production de méthane ont été étudiées dans les sédiments superficiels des deux stations, aux températures *in situ*.

– La réduction du nitrate a été déterminée dans des systèmes clos anaérobies, contenant 5 ml de sédiment et 5 ml d'une solution de nitrate (30 à $300\text{ }\mu M$), sous atmosphère anoxique (N_2 : 100 %). Une représentation en coordonnées inverses de la vitesse de consommation du nitrate permet de calculer les paramètres cinétiques K_m et V_{max} , à partir desquels, en tenant compte des concentrations de nitrate *in situ*, les activités de réduction du nitrate, exprimées en $\mu moles$ de nitrate consommé par litre de sédiment et par jour, sont calculées.

– La dénitrification a été estimée en systèmes clos, par le dosage de l'oxyde nitreux apparu après addition d'acétylène (Balderson *et al.*, 1976; Ranaivoson-Rambeloarisoa, 1988). L'oxyde nitreux est dosé par chromatographie en phase gazeuse à capture d'électrons (Girdel 30; colonne : Porapak Q; température du four $80^\circ C$, de l'injecteur $130^\circ C$, du détecteur $280^\circ C$; gaz vecteur azote), dans les phases gazeuse et liquide. Dans ce dernier cas, l'oxyde nitreux dissous est d'abord extrait à l'hélium, selon la technique de l'équilibrage multiple de Mac Auliffe (1971), modifiée par Chan et Knowles (1979). La détermination des paramètres cinétiques (K_m et V_{max}) de la production de N_2O permet de calculer l'activité dénitrifiante, exprimée en $\mu moles$ d'oxyde nitreux produit par litre de sédiment et par jour, en fonction des concentrations de nitrate mesurées *in situ*.

– L'activité sulfato-réductrice a été déterminée après injection de $10\text{ }\mu l$ d'une solution de sulfate marqué ($^{35}SO_4Na_2$, $100\text{ }\mu Ci.ml^{-1}$), dans une carotte de sédiment, tous les deux centimètres. Après 24 heures, la carotte, découpée en tranches, est distillée en milieu acide, sous courant d'azote (Jørgensen et Fenchel, 1974). La radioactivité du sulfure produit et du sulfate injecté est mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide (Beckman LS 1800). L'activité sulfato-réductrice, exprimée en $\mu moles$ de sulfate consommé par litre de sédiment et par jour, est calculée d'après Jørgensen (1978), en fonction des concentrations en sulfate *in situ*.

– L'activité des bactéries méthanogènes a été estimée d'après la quantité de méthane produit dans des tubes renfermant 1 ml de sédiment + 1 ml d'eau de mer contenant, ou ne contenant pas, un précurseur méthanogène marqué au ^{14}C . Le [^{14}C]carbonate (activité spécifique $56,1\text{ mCi/m mole}$; concentration finale $3,6\text{ }\mu M$), le

[^{14}C]formate (58,6 mCi/mmole; 3,4 μM) et le [^{14}C]acétate (58,6 mCi/mmole; 7 μM) ont été utilisés comme traceurs dès la première campagne de prélèvements, auxquels se sont ajoutés le [^{14}C]méthanol (59 mCi/mmole; 4 μM) à partir de la seconde campagne et la [^{14}C]TMA (3,0 mCi/mmole; 83 μM) pour les deux dernières campagnes. Les tubes sont placés sous atmosphère anoxique, H_2 : 100 % pour le carbonate et N_2 : 100 % pour les autres précurseurs méthanogènes. Au cours des trois mois d'incubation, les quantités de CH_4 et $^{14}\text{CH}_4$ produits dans l'atmosphère des tubes ont été déterminées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse à catharomètre (Packard 427) couplé à un compteur proportionnel de gaz (Packard 897; température d'admission 250°C, du four 750°C; gaz vecteur hélium; gaz d'atténuation propane).

RÉSULTATS

Les deux stations de prélèvement ont été étudiées au cours de six campagnes effectuées en février, juin, octobre et novembre 1985, et en avril et juillet 1986, donc avec une alternance de saison froide et de saison chaude.

Caractéristiques physiques et chimiques

Les paramètres physiques et chimiques mesurés dans les masses d'eau des stations 1 et 2, et rassemblés dans les tableaux 1 et 2, mettent en évidence la nette séparation de l'étang de Berre en zones Nord et Sud, zones dont les caractéristiques peuvent évoluer en cours d'année, en fonction des conditions climatiques.

Les variations saisonnières de la température sont prévisibles et reproductibles : les températures hivernales (février 1985, novembre 1985 et avril 1986) oscillent entre 8 et 10°C, pouvant descendre à 6°C dans la zone Nord (station 2) sous l'influence des apports d'eaux douces froides, et les températures estivales (juin 1985, octobre 1985 et juillet 1986) entre 18 et 23°C. Au cours de ces six campagnes, nous n'avons jamais observé la présence d'une thermocline dans la cuvette méridionale (station 1), si ce n'est une différence de 2°C entre l'eau de surface et l'eau du fond, en juin 1985.

Les variations spatio-temporelles de salinité enregistrées dans les masses d'eau apparaissent essentiellement liées au volume d'eau douce déversé par la centrale hydro-électrique de Saint-Chamas, dont le débit peut varier de 0 à 25. $10^6 \text{ m}^3 \cdot \text{j}^{-1}$ (Arfi, comm. pers.).

— En février 1985, juin 1985, et juillet 1986, périodes au cours desquelles le canal de dérivation de la Durance a eu un débit supérieur à $10^6 \text{ m}^3 \cdot \text{j}^{-1}$, les salinités des masses d'eau Nord et Sud correspondent à celles habituellement enregistrées dans l'étang, avec des minimums de 0,4 à 0,7 % et des maximums de 2,7 à 2,8 %. Dans la zone Nord (station 2), la couche d'eau superficielle et la couche d'eau profonde présentent des caractéristiques similaires, bien que la dernière soit un peu plus salée et un peu moins oxygénée. Dans la cuvette méridionale (station 1), on observe une halocline très

marquée, avec un gradient allant de 0,5 à 2,7 % en février 1985, de 0,4 à 2,5 % en juin 1985, et de 0,7 à 2,8 % en juillet 1986, avec, dans ce dernier cas, la mise en évidence d'une couche d'eau fortement réduite entre 7 m (-262 mV) et 8 m (-175 mV) de profondeur.

— L'été 1985 a été marqué par l'arrêt de la centrale hydro-électrique, ainsi que par une forte sécheresse, d'où évaporation intense et diminution des apports d'eau douce. Cette situation a eu pour conséquence, en octobre 1985, une importante augmentation de la salinité minimale qui atteint 1,6 %, entraînant une réduction de l'halocline dans la cuvette méridionale (1,6 à 2,9 %), où la couche d'eau profonde, entre 7 et 9 m, présente un potentiel d'oxydo-réduction fortement négatif (-229 à -254 mV).

— La campagne de novembre 1985 a coïncidé, d'une part avec la reprise du turbinage de la centrale, dont l'apport doux a entraîné une légère diminution de la salinité minimale de l'étang (1,2-1,3 %), d'autre part avec une période de fort mistral qui a permis un brassage et une oxygénation des eaux, d'où une halocline pratiquement inexistante dans la cuvette Sud (1,2 à 1,6 %).

— En avril 1986, le ralentissement de la turbine a été compensé par de fortes pluies, qui ont provoqué une nouvelle légère diminution de la salinité devenue uniforme (1,0-1,2 %) dans tout l'étang, en raison de l'homogénéisation des couches d'eau par un mistral violent ayant entraîné la disparition totale de l'halocline.

Dans tous les cas, on observe une diminution de la quantité d'oxygène dissous dans la colonne d'eau, en fonction de la profondeur, diminution plus prononcée dans la station 1 dont les eaux du fond, qui sont moins oxygénées et plus réduites que celles de la station 2, deviennent anoxiques en saison chaude. Quel que soit le degré de réduction des eaux profondes, les sédiments sous-jacents sont toujours fortement réduits (-200 à -350 mV) et contiennent d'importantes quantités de sulfure (station 1 : 15 à 21 mM; station 2 : 12 à 21 mM). Les sédiments superficiels de la station 1, sous influence marine, contiennent des teneurs en sulfate (15 à 29 mM) plus fortes que celles de la station 2 (4 à 23 mM), sous influence continentale, sans qu'il soit toutefois possible d'établir une relation directe entre la salinité des eaux et la charge en sulfate des sédiments sous-jacents.

Les composés azotés, avec des concentrations similaires dans les deux stations, et généralement plus élevées dans le sédiment que dans l'eau sus-jacente, sont nettement moins abondants (μM) que les composés soufrés (mM). Les teneurs en nitrate et nitrite sont 100 à 200 fois plus faibles que celles en ammonium. On observe une augmentation sensible des concentrations de ces trois composés pendant la saison chaude, avec des valeurs particulièrement élevées en juin 1985.

Dénombrements bactériens

La figure 2 regroupe les résultats des dénombrements des différentes communautés bactériennes (bactéries hétérotrophes aérobies, hétérotrophes anaérobies, res-

Tableau 1

Paramètres physico-chimiques (température, salinité, potentiel d'oxydo-réduction et oxygène dissous) dans la colonne d'eau (à 1 m de la surface et dans l'eau du fond : 9 m pour la station 1 et 5 m pour la station 2) et dans le sédiment (niveaux 0-2 et 2-4 cm) des deux stations, au cours des six campagnes.

Physical and chemical parameters (temperature, salinity, redox potential and dissolved oxygen) in the water column (1 m depth and bottom: 9 m depth in station 1 and 5 m depth in station 2), and in the upper sediment (0-2 and 2-4 cm) at the two sampling stations, during the six cruises.

		Station 1				Station 2			
		T°C	S %	Eh (mV)	O ₂ (ppm)	T°C	S %	Eh (mV)	O ₂ (ppm)
Février 1985	Eau 1 m	9	0,5	+110	7,9	9	0,5	+160	9,5
	Eau du fond	9	2,7	+95	2,0	9	0,7	+159	7,5
	Sédiment 0-2 cm	—	—	-190	—	—	—	-170	—
	Sédiment 2-4 cm	—	—	-205	—	—	—	-205	—
Juin 1985	Eau 1 m	18	0,4	+203	7,3	20	0,4	+257	6,9
	Eau du fond	20	2,5	+60	0,6	20	0,4	+200	5,2
	Sédiment 0-2 cm	—	—	-220	—	—	—	-201	—
	Sédiment 2-4 cm	—	—	-246	—	—	—	-194	—
Octobre 1985	Eau 1 m	18	1,6	+124	7,7	18	1,7	+211	6,1
	Eau du fond	18	2,9	-254	0,8	18	1,8	+138	5,8
	Sédiment 0-2 cm	—	—	-295	—	—	—	-282	—
	Sédiment 2-4 cm	—	—	-309	—	—	—	-311	—
Novembre 1985	Eau 1 m	8	1,2	+122	11,2	7	1,3	+101	10,3
	Eau du fond	8	1,6	+117	7,2	6	1,4	+100	10,2
	Sédiment 0-2 cm	—	—	-250	—	—	—	-330	—
	Sédiment 2-4 cm	—	—	-285	—	—	—	-320	—
Avril 1986	Eau 1 m	11	1,0	+220	10,5	11	1,1	+148	9,6
	Eau du fond	10	1,0	+61	5,0	10	1,2	+140	4,7
	Sédiment 0-2 cm	—	—	-250	—	—	—	-280	—
	Sédiment 2-4 cm	—	—	-257	—	—	—	-287	—
Juillet 1986	Eau 1 m	23	0,7	+141	7,5	23	1,0	+92	7,4
	Eau du fond	18	2,8	-27	4,4	21	0,6	+94	5,5
	Sédiment 0-2 cm	—	—	-286	—	—	—	-342	—
	Sédiment 2-4 cm	—	—	-305	—	—	—	-340	—

Tableau 2

Paramètres chimiques (concentrations en nitrate, nitrite, ammonium, sulfate et sulfure) dans l'eau du fond (9 m pour la station 1; 5 m pour la station 2) et dans le sédiment superficiel (niveau 0-2 cm) des deux stations, au cours des six campagnes.

Chemical parameters (nitrate, nitrite, ammonia, sulfate and sulfide concentrations) in the bottom water (9 m depth in station 1; 5 m depth in station 2) and in the upper sediment (0-2 cm) at the two sampling stations, during the six cruises.

		Station 1					Station 2				
		NO ₃ ⁻ (μM)	NO ₂ ⁻ (μM)	NH ₄ ⁺ (μM)	H ₂ S (mM)	SO ₄ ²⁻ (mM)	NO ₃ ⁻ (μM)	NO ₂ ⁻ (μM)	NH ₄ ⁺ (μM)	H ₂ S (mM)	SO ₄ ²⁻ (mM)
Février 1985	Eau	1,39	0,36	112,03	—	—	1,35	0,52	180,00	—	—
	Sédiment	0,90	1,01	174,08	19,4	29,4	0,63	1,15	221,70	16,4	3,7
Juin 1985	Eau	4,02	1,11	508,76	—	—	3,97	0,97	145,18	—	—
	Sédiment	5,52	1,71	666,54	21,5	25,5	4,15	1,37	436,37	18,5	9,1
Octobre 1985	Eau	0,75	0,20	71,80	—	—	0,56	0,49	99,77	—	—
	Sédiment	1,22	0,87	145,21	20,1	17,0	0,97	0,51	109,33	12,4	10,1
Novembre 1985	Eau	0,47	0,13	176,28	—	—	0,41	0,11	139,22	—	—
	Sédiment	0,52	0,21	276,22	18,1	22,4	0,39	0,11	200,10	21,4	22,9
Avril 1986	Eau	0,41	0,15	67,58	—	—	0,40	0,17	81,77	—	—
	Sédiment	0,63	0,19	72,02	15,0	15,0	0,45	0,13	70,12	15,0	8,0
Juillet 1986	Eau	1,96	0,88	147,31	—	—	1,21	0,27	100,13	—	—
	Sédiment	2,28	0,56	195,72	16,2	16,5	1,42	0,29	123,24	12,3	7,0

pirant le nitrate, sulfato-réductrices et méthanogènes) présentes dans les sédiments superficiels des deux stations. Étant donnée la similitude des résultats obtenus pour les niveaux sédimentaires 0-2 et 2-4 cm, seuls les résultats se rapportant au niveau 0-2 cm ont été reportés sur la figure 2.

Les sédiments superficiels des deux stations renferment une microflore particulièrement abondante, où toutes les communautés bactériennes recherchées sont représentées, sans fluctuation notable des effectifs en fonction des saisons. Ce sont les bactéries hétérotrophes aérobies, comprenant les aérobies strictes et les anaérobies facultatives, et les bactéries hétérotrophes anaérobies, comprenant les anaérobies strictes et facultatives, qui constituent les peuplements bactériens les plus importants dans les sédiments des deux stations, dépassant

généralement 10⁵ bactéries par millilitre. Dans la station 1, avec des effectifs variant entre 10⁵ et 10⁷ bactéries par millilitre, les bactéries hétérotrophes anaérobies sont numériquement égales ou supérieures aux bactéries hétérotrophes aérobies, ce qui n'est pas toujours le cas dans les sédiments de la station 2, où les populations hétérotrophes aérobies, plus importantes que celles de la station 1, peuvent dépasser en nombre les bactéries hétérotrophes anaérobies. Les dénombrements effectués sur l'eau sus-jacente au sédiment (résultats non publiés) ont mis en évidence la présence de populations bactériennes beaucoup plus restreintes, les sédiments contenant 100 à 1 000 fois plus de bactéries aérobies, et 1 000 à 100 000 fois plus de bactéries anaérobies que l'eau du fond.

Les sédiments superficiels des deux stations abritent

d'importants peuplements de bactéries sulfato-réductrices qui, avec des effectifs de 10^4 à 10^6 bactéries par millilitre, peuvent surpasser en nombre les hétérotrophes aérobies et les hétérotrophes anaérobies (station 1 : février 1985 et avril 1986). Les bactéries respirant le nitrate, bien que nombreuses (10^3 à 10^5 bactéries par millilitre) ne constituent jamais la communauté bactérienne numériquement dominante dans les sédiments des deux stations. Les bactéries méthanogènes, regroupant les bactéries méthylotrophes et les bactéries non méthylotrophes, avec des effectifs de l'ordre de 10^3 bactéries par millilitre, représentent la communauté bactérienne minoritaire de ces sédiments; des bactéries méthanogènes ont pu être mises en évidence dans l'eau sus-jacente au sédiment, en juin et octobre 1985, quand la couche d'eau profonde de la station 1 est devenue anoxique.

Activités bactériennes

La figure 3 regroupe les résultats concernant les activités des communautés bactériennes respirant le nitrate, réduisant le sulfate et produisant du méthane, dans les sédiments superficiels (niveau 0-2 cm) des deux stations, aux températures *in situ*. L'activité de respiration du nitrate correspond à la consommation du nitrate (calculée à partir des paramètres cinétiques et de la concentration en nitrate), l'activité sulfato-réductrice à la consommation du $[^{35}\text{S}]$ sulfate (calculée en fonction

de la concentration en sulfate), et l'activité méthanogène à la production de méthane non-radioactif. La comparaison de ces trois activités bactériennes, bien qu'aléatoire, chaque estimation ayant mis en œuvre l'utilisation de techniques et de conditions expérimentales différentes, montre une nette dominance de la sulfato-réduction. En moyenne, les bactéries sulfato-réductrices réduisent 250 μmoles de sulfate par litre de sédiment et par jour, les bactéries respirant le nitrate réduisent 10 (station 2) à 26 (station 1) μmoles de nitrate et les bactéries méthanogènes produisent 4 (station 1) à 20 (station 2) μmoles de méthane.

La respiration du nitrate et la dénitrification

L'importance de la réduction du nitrate fluctue avec les saisons : 81 à 83 % du nitrate consommé est réduit pendant la saison chaude (juin et octobre 1985, juillet 1986), à des températures égales ou supérieures à 18°C . Pour des températures similaires, soit 18 à 20°C en saison chaude, soit 6 à 10°C en saison froide, on observe de fortes variations en fonction de la concentration en nitrate *in situ*. Ainsi, 53 (station 1) à 66 % (station 2) de l'activité estivale de respiration du nitrate a été enregistrée en juin 1985, correspondant à des teneurs en nitrate particulièrement élevées; de même, les sédiments de la station 1, qui contiennent toujours des teneurs en nitrate supérieures à celles de la station 2, sont invariablement le siège d'activités de

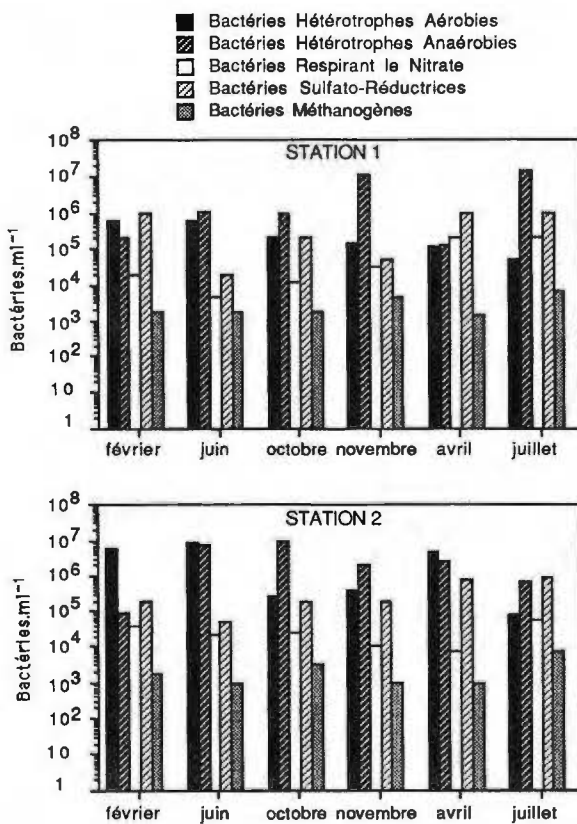


Figure 2
Dénombrements bactériens (nombre de bactéries par millilitre de sédiment) dans le sédiment superficiel (niveau 0-2 cm) des deux stations, au cours des six campagnes.

Bacterial counts (bacterial numbers per millilitre of sediment) in the upper sediment (0-2 cm) at the two sampling stations, through the six cruises.

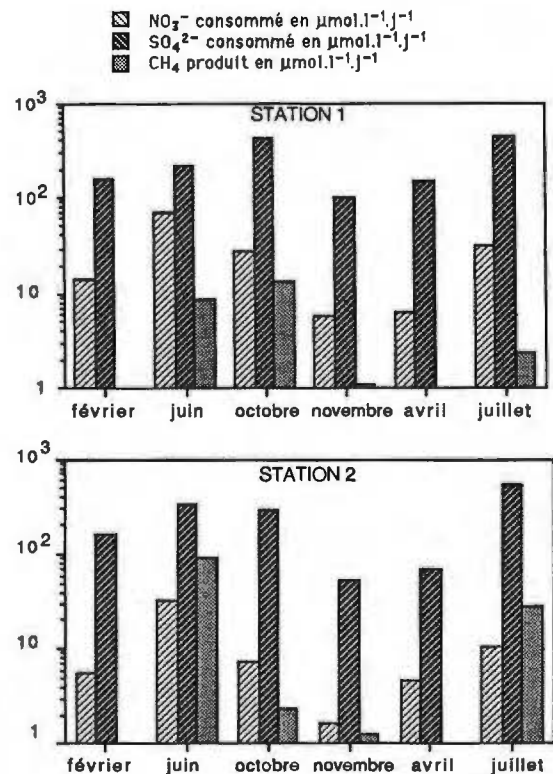


Figure 3
Activités bactériennes (réduction du nitrate, sulfato-réduction et méthanogénèse) dans les sédiments superficiels (niveau 0-2 cm) des deux stations, au cours des six campagnes.

Bacterial activities (nitrate-reduction, sulfate-reduction and methanogenesis) in the upper sediments (0-2 cm) at the two sampling stations, through the six cruises.

réduction du nitrate plus élevées que celles enregistrées dans la station 2.

Les résultats concernant l'activité des bactéries respirant le nitrate (assimilée à la consommation de nitrate) d'une part, et l'activité des bactéries dénitrifiantes (assimilée à la production de N_2O) d'autre part, sont regroupés dans le tableau 3. Aucune activité dénitrifiante n'ayant pu être détectée dans les systèmes clos, à partir du nitrate initialement présent dans le sédiment, du nitrate a été ajouté, à des concentrations identiques à celles utilisées pour les mesures de réduction du nitrate. Au cours des six campagnes, et dans les sédiments des deux stations, la dénitrification, qui présente de fortes fluctuations saisonnières, apparaît toujours comme une voie minoritaire de la respiration du nitrate. En moyenne, la dénitrification intervient seulement pour 7% (en saison froide) à 10-12% (en saison chaude) de la respiration du nitrate et semble, comme cette dernière, être influencée par la température et la concentration en nitrate : les sédiments de la station 1, plus riches en nitrate, contiennent une population déni-

trifiante plus active; 84 à 86% de l'activité dénitrifiante ont été enregistrés en période estivale, et 49 à 57% de cette activité ont été mesurés au mois de juin 1985, quand les teneurs en nitrate sont les plus élevées.

Des expériences d'amendement en matière organique d'une part, et en nitrate d'autre part (Ranaivoson-Rambeloarisoa, 1988) ont montré que, dans les sédiments de l'étang de Berre, si les activités de respiration du nitrate et de dénitrification ne sont pas influencées par l'ajout de substrats organiques, elles sont par contre fortement stimulées par des amendements en nitrate. Pour des concentrations en nitrate de 500 μM , donc 80 à 1 000 fois plus élevées que celles mesurées *in situ*, les bactéries respirant le nitrate et les bactéries dénitrifiantes présentent respectivement des activités potentielles 300 à 400, et 200 à 500 fois plus importantes que leurs activités estimées.

La sulfato-réduction

La sulfato-réduction représente la plus forte des activités bactériennes étudiées dans les sédiments de l'étang

Tableau 3

Comparaison des activités de réduction du nitrate ($\mu moles$ de nitrate consommé par litre de sédiment et par jour) et dénitrification ($\mu moles$ d'oxyde nitreux produit par litre de sédiment et par jour), dans les sédiments superficiels (niveau 0-2 cm) des deux stations, au cours des six campagnes.

Comparison between nitrate reduction activity ($\mu moles$ of nitrate reduced per litre of sediment per day) and denitrification activity ($\mu moles$ nitrous oxide produced per litre of sediment per day), in the upper sediment (0-2 cm) at the two sampling stations, during the six cruises.

	Réduction NO_3^-		Production N_2O		$\frac{N_2O \text{ produit}}{NO_3^- \text{ réduit}} \times 100$	
	($\mu mol \cdot l^{-1} \cdot j^{-1}$)		($\mu mol \cdot l^{-1} \cdot j^{-1}$)		(%)	
	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2
Février 1985	14,60	5,60	1,11	0,38	7,60	6,79
Juin 1985	68,76	33,51	7,47	2,55	10,86	7,61
Octobre 1985	27,87	7,29	2,15	0,80	7,71	10,97
Novembre 1985	5,93	1,69	0,26	0,11	4,38	6,51
Avril 1986	6,24	4,80	1,11	0,37	17,79	7,71
Juillet 1986	31,63	10,33	3,40	1,83	10,75	17,71

Tableau 4a

Production de (^{14}C) méthane (dpm par millilitre de sédiment et par jour), aux températures *in situ*, dans les sédiments superficiels (niveau 0-2 cm) des deux stations, au cours des six campagnes, après amendements en différents (^{14}C) substrats méthanogènes potentiels.

Response of (^{14}C) methane production (dpm per millilitre of sediment per day) to additional amounts of different methanogenic (^{14}C) substrates, in the upper sediment (0-2 cm) at the two sampling stations, during the six cruises.

TMA	Station 1					Station 2				
	(^{14}C) Traceurs					(^{14}C) Traceurs				
	CO_3^{2-}	Formate	Acétate	Méthanol	TMA	CO_3^{2-}	Formate	Acétate	Méthanol	TMA
Février 1985	0	0	0	—	—	0	0	0	—	—
Juin 1985	50	0	150	430	—	400	0	5 330	12 500	—
Octobre 1985	620	0	90	870	—	0	90	0	280	—
Novembre 1985	0	0	0	70	—	0	190	0	290	—
Avril 1986	0	0	0	110	5 400	260	0	0	500	4 980
Juillet 1986	608	0	0	2 900	28 160	0	350	500	2 650	32 850

(TMA = Triméthylamine)

Tableau 4b

Contribution (%) à la production globale de (^{14}C) méthane des différents (^{14}C) précurseurs méthanogènes dans les sédiments superficiels (niveau 0-2 cm) des deux stations, à 9, 20 et 30°C.

Contribution (%) of the different methanogenic (^{14}C) precursors to the total (^{14}C) methane production in the upper sediment (0-2 cm) at the two sampling stations, incubated at 9, 20, and 30°C.

TMA	Station 1					Station 2				
	(^{14}C) Traceurs					(^{14}C) Traceurs				
	CO_3^{2-}	Formate	Acétate	Méthanol	TMA	CO_3^{2-}	Formate	Acétate	Méthanol	TMA
9°C	0	0	0	1,6	98	1,6	1,1	0	7,1	90
20°C	1,2	0,1	0,3	4,7	94	0,2	0,3	4,7	12,8	82
30°C	37	0,5	1,6	11,2	49,3	25,5	1,3	5,9	7,2	60

de Berre (fig. 3). Les fluctuations de cette activité apparaissent étroitement liées à la température : 73 (station 1) à 80 % (station 2) de l'activité sulfato-réductrice globale ont été enregistrés en saison chaude (18-20°C). Ces activités sont similaires dans les sédiments des deux stations, en dépit de teneurs en sulfate très différentes : ainsi, en février 1985, les bactéries sulfato-réductrices réduisent 160 µmoles de sulfate par litre de sédiment et par jour, aussi bien dans les sédiments de la station 1 qui renferment 29,4 mmoles de sulfate par litre, que dans ceux de la station 2 qui n'en contiennent que 3,7 (concentration minimale enregistrée). Si les quantités de sulfate ne sont jamais limitantes pour la sulfato-réduction, par contre, celle-ci est manifestement contrôlée par la température, les températures estivales (18-20°C) assurant une activité trois à quatre fois plus importante que celle enregistrée en saison hivernale (6-9°C). La quantité de matière organique accessible aux bactéries sulfato-réductrices constitue aussi un important facteur régulateur. Des mesures de sulfato-réduction effectuées sur des sédiments amendés avec différents substrats potentiels des bactéries sulfato-réductrices ont montré que les divers composés testés stimulaient plus ou moins fortement l'activité sulfato-réductrice. L'activité témoin est légèrement plus forte dans les sédiments de la station 1; le propionate (2 mM) et l'acétate (2 mM) stimulent de façon similaire la sulfato-réduction dans les deux stations, multipliant respectivement celle-ci par 4-5 et 8-9. Les amendements en formate (2 mM), lactate (2 mM) et H₂-CO₂ (2 bars) ont un effet plus prononcé sur les sédiments de la station 2, déclenchant une sulfato-réduction 12, 21 et 17 fois supérieure à celle enregistrée dans le témoin, alors que dans la station 1, l'activité sulfato-réductrice est multipliée par 7, 8 et 14.

La méthanogenèse

Au cours des six campagnes, les productions de CH₄ et de ¹⁴CH₄ ont été estimées dans les niveaux 0-2 et 2-4 cm; la comparaison des résultats ayant montré une faible fluctuation de l'activité méthanogène entre ces deux niveaux, seuls les résultats se rapportant au niveau superficiel (0-2 cm) sont rapportés ici. La production de méthane (µmoles de CH₄ produit par litre de sédiment et par jour) apparaît particulièrement sensible aux basses températures, étant quasiment (novembre 1985, avril 1986), ou totalement (février 1985) inhibée en période hivernale (6-10°C; fig. 3). Les productions les plus fortes ont été observées en octobre 1985 pour la station 1 et en juin 1985 pour la station 2, ces activités étant généralement plus importantes dans la station 2.

Les mesures d'activités méthanogènes (dpm de ¹⁴CH₄ produit par millilitre de sédiment et par jour), effectuées aux températures *in situ*, en présence des principaux précurseurs méthanogènes (H₂-CO₂, formate, acétate, méthanol et triméthylamine), apportés sous forme de [¹⁴C]traceurs, sont présentées dans le tableau 4a. Le tableau 4b regroupe les interventions relatives des différents précurseurs au niveau de la production globale de ¹⁴CH₄, à 9, 20 et 30°C. Ces résultats montrent une utilisation très variable des divers précurseurs méthano-

gènes, d'une part en fonction de la station, et d'autre part en fonction de la température.

— Le carbonate : à 9°C, l'hydrogénation du carbonate en méthane est inexistante dans la station 1, et fournit moins de 2 % du méthane produit dans la station 2. Légèrement plus importante à 20°C, cette activité devient réellement significative à 30°C, où elle est respectivement à l'origine de 25 et de 37 % du méthane produit dans les sédiments des stations 1 et 2.

— Le formate correspond au précurseur méthanogène le moins utilisé, intervenant peu (station 2), ou pas (station 1), dans les processus de production de méthane aux températures *in situ*. Son utilisation devient légèrement plus importante quand la température augmente, assurant, à 30°C de 0,5 à 1,3 % du méthane produit.

— L'acétate : dans les sédiments des deux stations, aucune réaction acétoclastique n'a pu être mise en évidence en période hivernale. Des bactéries méthanogènes capables de cliver l'acétate en CH₄ et CO₂ sont toutefois présentes dans ces sédiments : totalement inhibées à des températures inférieures à 10°C, ces bactéries deviennent actives quand les sédiments sont incubés à des températures plus élevées. L'activité acétoclastique est toujours plus importante dans la station 2, où elle est à l'origine de 5 (20°C) à 6 % (30°C) du méthane produit, que dans la station 1 où moins de 2 % du méthane dérive du groupement méthyle de l'acétate.

— Le méthanol : au cours des cinq campagnes où il a été utilisé comme [¹⁴C] traceur, le méthanol est apparu comme le seul précurseur méthanogène testé à être réduit en ¹⁴CH₄ en toute saison, dans les deux stations. Déjà effectif à 9°C, ce processus devient plus important quand la température s'élève, pouvant alors fournir 11 à 13 % du méthane produit. Aux températures *in situ*, la plus forte production de méthane à partir du méthanol a été enregistrée dans la station 2 en juin 1985, époque correspondant aussi à la réaction acétoclastique la plus importante.

— La triméthylamine : la [¹⁴C]TMA n'a été utilisée que dans les deux dernières campagnes, mais les résultats obtenus ici ont été confirmés au cours d'études ultérieures (Marty, comm. pers.). Quel que soit le sédiment étudié ou la température d'incubation, la TMA est à l'origine de la plus forte proportion de ¹⁴CH₄. A 9°C, 90 (station 2) à 98 % (station 1) du méthane produit dérive de la TMA; le processus s'amplifie jusqu'à 20°C, puis se stabilise. Au contraire, à partir des autres précurseurs, les productions de méthane continuent à augmenter entre 20 et 30°C, spécialement la respiration carbonate qui, à 30°C, peut fournir des quantités de ¹⁴CH₄ similaires à celles obtenues par la voie méthylo-

DISCUSSION

Fortement perturbé par l'amplitude et la brutalité des variations de ses caractéristiques hydrologiques, l'étang de Berre, qui peut être défini comme un milieu eutrophe, saumâtre à polysaumâtre (Beker, 1986), se

distingue par une instabilité particulièrement prononcée. Cette variabilité spatio-temporelle est essentiellement régie par la quantité d'eau douce déversée dans l'étang. Ces apports, inféodés à la gestion des ressources hydrauliques du bassin de la Durance, dépendent des besoins en eau et en énergie de la région; bien que subordonnés aux conditions météorologiques, ils ne sont pas contrôlés par le cycle saisonnier proprement dit.

Par opposition aux masses d'eau en évolution constante, les sédiments sous-jacents constituent des biotopes relativement stables. Aussi bien dans la zone nord de l'étang que dans la zone sud, la quantité de matière organique atteignant le sédiment est toujours suffisante pour permettre l'établissement de conditions réduites dès l'interface eau-sédiment, et le développement concomitant, vraisemblablement dans des micro-niches distinctes (Jørgensen, 1977; Henrich et Reeburgh, 1987; Westerman et Ahring, 1987), de populations bactériennes affichant des métabolismes théoriquement incompatibles, telles que les bactéries dénitrifiantes, les bactéries sulfato-réductrices et les bactéries méthanogènes.

Pour chacun de ces groupes trophiques, les études de numération ont montré une faible fluctuation du nombre de bactéries au cours du temps, sans commune mesure avec les fortes variations enregistrées au niveau des activités bactériennes. Ainsi l'augmentation des activités en période estivale ne s'accompagne pas du développement massif des différentes populations bactériennes concernées. Cette stabilité des effectifs bactériens est vraisemblablement due à une régulation par broutage, l'étang de Berre abritant une méiofaune particulièrement dense ($14 \cdot 10^5$ à $32 \cdot 10^5$ individus par mètre carré), constituée essentiellement de nématodes, en conditions anoxiques (Vitiello, comm. pers.).

Les activités de respiration du nitrate, de dénitrification et de sulfato-réduction sont en moyenne 2,5 fois plus importantes dans les sédiments de la cuvette méridionale, contrairement à la production de méthane qui est cinq fois plus forte dans la partie nord de l'étang. Divers facteurs physico-chimiques peuvent contrôler ces activités, dont la température et la disponibilité en donneurs ou en accepteurs d'électrons. La comparaison des résultats obtenus en saison froide et en saison chaude fait apparaître la température comme un important facteur limitant, commun à toutes ces activités, les températures estivales (18-20°C) permettant de multiplier respectivement par 3 à 4, par 4 à 5, par 5 à 6 et par 200 à 300 les activités de sulfato-réduction, de respiration du nitrate, de dénitrification et de méthanogénèse, par rapport à celles enregistrées en période hivernale (6-10°C).

Bien qu'influencée par la température, la réduction du nitrate, aussi bien au niveau respiration du nitrate que dénitrification, apparaît plus sévèrement limitée par la faible quantité d'accepteurs d'électrons disponibles dans le milieu que par les basses températures. Les sédiments de l'étang de Berre renferment au maximum quelques μ moles de nitrate par litre, concentrations nettement inférieures à celles observées dans d'autres biotopes aquatiques (Ranaivoson-Rambeloarisoa,

1988) et qui justifient, d'une part les faibles activités enregistrées, comparativement à celles mesurées dans d'autres sédiments lagunaires ou côtiers (Knowles, 1982; Seitzinger, 1988), d'autre part la mise en évidence d'activités plus fortes dans les sédiments de la zone Sud, où les teneurs en nitrate sont plus élevées. Dans l'étang, les apports en composés azotés par les eaux douces sont pourtant particulièrement importants, ayant atteint 2414 t de N-NO₃, 75 t de N-NO₂ et 34 t de N-NH₄ en 1985 (Arfi, comm. pers.). Toutefois, la majorité du nitrate est consommée dans les eaux et rejetée sous forme de NH₄⁺ (en 1985, il a été observé la disparition de 1690 t de N-NO₃ et la production de 108 t de N-NH₄), ce qui explique les faibles concentrations en nitrate mesurées dans les sédiments. Quelle que soit la saison ou la charge en nitrate, dans les deux stations, la dénitrification n'intervient que pour un faible pourcentage de la réduction globale du nitrate, sa contribution étant toujours inférieure à 20%. La réduction du nitrate peut intervenir aussi bien dans la production d'ammonium que dans la dénitrification: l'importance relative de ces deux processus est fonction de la quantité de matière organique présente, de fortes concentrations favorisant la production d'ammonium (Koike et Hattori, 1978; Sørensen, 1987; Jørgensen et Sørensen, 1988). Dans les sédiments de l'étang de Berre, l'essentiel du nitrate réduit entre vraisemblablement dans la voie de réduction dissimilatrice du nitrate en ammonium qui devient la voie majoritaire, ce qui est accord avec l'observation, au cours des mesures d'activité de dénitrification, d'une faible apparition de NH₄⁺ et de l'absence d'accumulation de NO₂⁻.

Malgré la dessalure d'une grande partie de l'étang, et en dépit de fortes fluctuations saisonnières, les teneurs en sulfate sont toujours supérieures (concentration minimale enregistrée: 3,7 mM) au seuil de 1 mM requis (Skyring, 1987) pour ne jamais intervenir en tant que facteur limitant pour la sulfato-réduction. Bien que cette activité constitue le métabolisme bactérien anaérobie prédominant dans les sédiments de l'étang de Berre, elle est généralement inférieure à celle observée dans d'autres sédiments lagunaires (Caumette, 1985), estuariens ou côtiers (Skyring, 1987). Dans l'étang, cette activité est contrôlée par la température, mais surtout par la quantité de substrats utilisables par les bactéries sulfato-réductrices. La mise en évidence d'une activité sulfato-réductrice à partir de certains substrats potentiels sous-entend la présence de ces différents nutriments dans les sédiments, où ils ont permis le développement de populations bactériennes capables de les utiliser. La présence de propionate, de lactate et d'acétate dans les sédiments a été confirmée par l'isolement de différentes souches sulfato-réductrices, capables d'utiliser le propionate et appartenant à l'espèce *Desulfobulbus propionicus*, capables d'utiliser le lactate et appartenant au genre *Desulfovibrio* (Esnault *et al.*, 1988), et capables d'utiliser l'acétate et appartenant au genre *Desulfobacter*. Toutefois, l'amplification de la sulfato-réduction dans les sédiments amendés avec ces divers composés signifie que ces derniers ne sont pas suffisamment représentés dans le milieu naturel pour assurer une activité sulfato-réductrice optimale, et qu'ils

jouent le rôle de facteurs limitants. En outre, l'amplification plus forte observée dans les sédiments de la zone nord de l'étang implique que ces composés y sont quantitativement moins importants, donc que la matière organique est moins abondante dans cette zone que dans la cuvette méridionale. Dans le nord de l'étang, la Durance déverse des eaux riches en matériel organique particulaire; mais cette matière organique détritique, fortement diluée par les apports minéraux, et déjà altérée du fait de son transit fluvial, continue à être dégradée avant d'atteindre le sédiment, et le matériel qui s'y dépose est particulièrement résistant aux attaques bactériennes (Delmas, 1980). Au contraire dans la cuvette méridionale, la matière organique qui sédimente, d'origine essentiellement planctonique, est moins dégradée et constitue une ressource trophique plus favorable, permettant une importante activité minéralisatrice à l'interface eau-sédiment (Delmas et Romano, 1980).

La méthanogenèse représente l'activité la plus sévèrement inhibée à basse température. En période estivale, les bactéries méthanogènes peuvent se développer, mais elles entrent en compétition avec les bactéries sulfato-réductrices pour l'utilisation de certains substrats communs à ces deux groupes bactériens: H_2 - CO_2 , le formate, l'acétate. Ces substrats qui, pour des raisons cinétiques et thermodynamiques (Kristjansson *et al.*, 1982; Schönheit *et al.*, 1982), sont utilisés préférentiellement par les bactéries sulfato-réductrices, sont, de plus, faiblement représentés dans les sédiments de l'étang de Berre, n'autorisant qu'une activité sulfato-réductrice restreinte. Dans ces sédiments, la respiration du carbonate, correspondant à l'hydrogénation du carbonate en méthane et à l'utilisation du formate après sa conversion en H_2 et CO_2 , et la voie acétoclastique, correspondant au clivage de l'acétate en CH_4 et CO_2 , sont limitées, à la fois par l'activité des bactéries sulfato-réductrices et par la température, les températures permettant aux systèmes enzymatiques impliqués de s'exprimer étant généralement plus élevées que celles observées *in situ*. L'essentiel du méthane produit résulte de la voie méthylo-trophique, correspondant à la protonation des groupements $-CH_3$ du méthanol et de la TMA. Faiblement utilisé par les bactéries sulfato-réductrices, le méthanol proviendrait du clivage des pectines et des lignines (Oremland *et al.*, 1982; Nedwell,

1984), mais on connaît encore peu de choses sur son importance en tant que nutriment dans les écosystèmes sédimentaires côtiers. Au contraire, la TMA constituerait une source carbonée non négligeable dans ce type de biotope où elle peut être, soit directement excrétée par certains amphipodes (Sørensen et Glob, 1987), soit produite au cours de la dégradation anaérobie de composés (choline, glycine-bétaïne, créatine) intervenant dans les processus d'osmorégulation des organismes marins (King 1984a; 1984b). Dans les sédiments de l'étang de Berre, cette amine n'est dégradée ni par les bactéries dénitrifiantes, ni par les bactéries sulfato-réductrices, qui se sont avérées incapables de l'utiliser comme source de carbone. La TMA présente le double avantage, d'une part d'être un substrat spécifiquement méthanogène, et d'autre part de faire intervenir une voie catabolique dont les systèmes enzymatiques continuent à être actifs en saison froide. La production de méthane plus importante de la station 2 peut s'expliquer, soit par la présence, dans cette zone, de bactéries sulfato-réductrices moins actives que dans la zone Sud, soit par les fortes variations de la salinité enregistrées dans cette partie de l'étang, lesquelles, en impliquant une adaptation constante des processus d'osmorégulation, peuvent engendrer une production accrue de TMA.

Ces premiers résultats montrent que les métabolismes bactériens de sulfato-réduction, de réduction du nitrate et de production du méthane interviennent dans les phases ultimes de la minéralisation de la matière organique dans les sédiments superficiels de l'étang de Berre. Malgré une nette division des masses d'eau de l'étang en zones Nord et Sud, la première, oligomarine et fortement chargée en apports minéraux et organiques d'origine continentale, et la seconde, marine où la matière organique est d'origine essentiellement planctonique, dans les sédiments sous-jacents la sulfato-réduction constitue toujours le processus dominant, impliquant une chaîne alimentaire détritique de type marine, ce qui est confirmé par une production de méthane découlant essentiellement de la triméthylamine.

Remerciements

Ce travail a été effectué dans le cadre de l'ATP « Lagunes et Marais Maritimes ».

RÉFÉRENCES

- American Public Health Association (1971). *Standard methods for the examination of waste and wastewater*. American Public Health Association, INC., New York, 13th edition, 626 pp.
- Atlas R. M. (1984). *Microbiology: fundamentals and applications*. McMillan Publishing Company, New York, 560 pp.
- Balderson W. L., B. Sherr et W. J. Payne (1976). Blockage by acetylene of nitrous oxide reduction in *Pseudomonas perfectimarinus*. *Appl. environ. Microbiol.*, **31**, 504-508.
- Beker B. (1986). Communautés phytoplanctoniques en milieu côtier à salinité variable (Etang de Berre, Golfe de Fos). *Thèse d'Université*, Université d'Aix-Marseille II, 112 pp.
- Benschneider K. et R. J. Robinson (1952). A new spectrometric method for determination of nitrite in sea water. *J. mar. Res.*, **11**, 87-96.

- Bryant M. P. (1979). Microbial methane production: theoretical aspects. *J. anim. Sci.*, **48**, 193-201.
- Caumette P. (1985). Développement des bactéries phototrophes et des bactéries sulfato-réductrices dans des lagunes peu profondes et des lagunes stratifiées. Étude de leur rôle dans le cycle du soufre et dans la production de biomasse. *Thèse Doctorat d'État*, Université d'Aix - Marseille-III, 325 pp.
- Caumette P. (1986). Phototrophic sulfur bacteria and sulfate-reducing bacteria causing red waters in a shallow brackish coastal lagoon. *FEMS microbiol. Ecol.*, **38**, 113-124.
- Caumette P. (1989). Les lagunes et les marais maritimes, in: *Microorganismes dans les écosystèmes océaniques*, édité par M. Bianchi, D. Marty, J.-C. Bertrand, P. Caumette, M. Gauthier *et al.*, Masson, Paris, 249-282.

- Chan Y. K. et R. Knowles R. (1979). Measurement of denitrification in two freshwater sediments by an *in situ* acetylene inhibition method. *Appl. environ. Microbiol.*, **37**, 1067-1072.
- Cline J. D. (1969). Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnol. Oceanogr.*, **14**, 454-458.
- Delmas D. (1980). Minéralisation de la matière organique et échanges ioniques à l'interface eau-sédiment de l'étang de Berre, Méditerranée. *Oceanologica Acta*, **3**, 3, 347-356.
- Delmas D. et J.-C. Romano (1980). Évaluation indirecte de la biomasse et de l'activité des microorganismes dans les sédiments de l'étang de Berre. Relation avec les teneurs et la diagenèse de la matière organique. *Téthys*, **9**, 285-297.
- Esnault G., P. Caumette et J. L. Garcia (1988). Characterization of *Desulfovibrio giganteus* sp. nov., a sulfate-reducing bacterium isolated from a brackish coastal lagoon. *System. appl. Microbiol.*, **10**, 147-151.
- Fenchel T. B. et B. B. Jørgensen (1977). Detritus food chain of aquatic ecosystems: the role of bacteria. IV: Anaerobic decomposition, in: *Advances in Microbial Ecology*, edited by M. Alexander, Plenum Press, New York and London, vol. 1, 1-58.
- Henrich S. M. et W. S. Reeberg (1987). Anaerobic mineralization of marine sediment organic matter: rates and the role of anaerobic processes in the oceanic carbon economy. *Geomicrobiol. J.*, **5**, 191-237.
- Horne R. A. (1969). *Marine chemistry. The structure of water and the chemistry of the hydrosphere*. Wiley, New York, 542 pp.
- Hungate R. E. (1969). A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. *Methods in Microbiology*, **3B**, 117-132.
- Jørgensen B. B. (1977). Bacterial sulfate reduction within reduced microniches of oxidized marine sediments. *Mar. Biol.*, **41**, 7-17.
- Jørgensen B. B. (1978). A comparison of methods for the quantification of bacterial sulphate reduction in coastal marine sediments. I: Measurements with radiotracer techniques. *Geomicrobiol. J.*, **1**, 11-28.
- Jørgensen B. B. (1983). Processes at the sediment-water interface, in: *The major biogeochemical cycles and their interactions*, edited by B. Bolin and R. B. Cook, Wiley and Sons, Chichester, 477-515.
- Jørgensen B. B. et T. Fenchel (1974). The sulfur cycle of a marine sediment model system. *Mar. Biol.*, **24**, 189-201.
- Jørgensen B. B. (1983). Processes at the sediment-water interface, in: *The major biogeochemical cycles and their interactions*, edited by B. Bolin and R. B. Cook, Wiley and Sons, Chichester, 477-515.
- Jørgensen B. B. et J. Sørensen (1988). Two annual maxima of nitrate reduction and denitrification in estuarine sediment (Norsminde Fjord, Denmark). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **48**, 147-154.
- Kim K. T. (1982). La température des eaux des étangs de Berre et de Vaïne en relation avec celles des cours d'eau afférents et du milieu voisin (Méditerranée nord-occidentale). *Téthys*, **10**, 291-302.
- Kim K. T. (1988). La salinité et la densité des eaux des étangs de Berre et de Vaïne (Méditerranée nord-occidentale). Relations avec les affluents et le milieu marin voisin. *Mar. Nature.*, **1**, 37-58.
- King G. M. (1984a). Utilization of hydrogen, acetate, and "noncompetitive" substrates by methanogenic bacteria in marine sediments. *Geomicrobiol. J.*, **3**, 275-306.
- King G. M. (1984b). Metabolism of trimethylamine, choline, and glycine betaine by sulfate-reducing and methanogenic bacteria in marine sediments. *Appl. environ. Microbiol.*, **48**, 719-725.
- Knowles R. (1982). Denitrification. *Microbiol. Rev.*, **46**, 43-70.
- Koike I. et A. Hattori A. (1978). Denitrification and ammonia formation in anaerobic coastal sediments. *Appl. environ. Microbiol.*, **35**, 278-282.
- Kristjansson J. K., P. Schonheit et R. K. Thauer (1982). Different K_s values for hydrogen of methanogenic bacteria and sulfate reducing bacteria: an explanation for the apparent inhibition of methanogenesis by sulfate. *Arch. microbiol.*, **131**, 278-282.
- Mac Aulife (1971). GC determination of solutes by multiple phase equilibration. *Chem. Technol.*, **1**, 2927-2933.
- Marty D. G. (1983). Cellulolyse et méthanogenèse dans les sédiments marins. *Thèse Doctorat d'État*, Université d'Aix - Marseille-I, 156 pp.
- Marty D. G. et J. E. Garcin (1987). Présence de bactéries méthanogènes méthylophiles dans les sédiments profonds du détroit de Makassar (Indonésie). *Oceanologica Acta*, **10**, 249-253.
- Marty D., J.-C. Bertrand et P. Caumette (1989). Les métabolismes bactériens dans les systèmes sédimentaires marins, in: *Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques*, édité par M. Bianchi, D. Marty, J.-C. Bertrand, P. Caumette, M. Gauthier *et al.*, Masson, Paris, 101-151.
- Minas M. (1976). Production organique primaire dans un milieu saumâtre eutrophe (Étang de Berre). Effets d'une forte dilution (dérivation des eaux de la Durance). *Mar. Biol.*, **35**, 13-29.
- Minas M., M.-C. Bonin, B. Coste, P. David et H. J. Minas (1976). Caractère particulier du mécanisme d'eutrophisation dans l'étang de Berre. *Ann. Inst. océanogr. Paris*, **52**, 153-161.
- Nedwell D. B. (1984). The input and mineralization of organic carbon in anaerobic aquatic sediments. *Adv. Microbiol.*, **7**, 93-132.
- Oppenheimer C. et C. E. Zobell (1952). The growth and viability of sixty-three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *J. mar. Res.*, **11**, 10-18.
- Oremland R. S., L. Marsb et S. Polcin (1982). Methane production and simultaneous sulphate reduction in anoxic, salt marsh sediments. *Nature*, **296**, 143-145.
- Pfennig N., F. Widdel et H. G. Trüper (1981). The dissimilatory sulfate-reducing bacteria, in: *The Prokaryotes, a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*, edited by M. P. Starr, H. Stolp, H. G. Trüper, A. Balows and H. G. Schlegel, Springer-Verlag, Berlin, vol. 1, 926-940.
- Ranaivoson-Rambeloarisoa E. (1988). Dénitrification dans des sédiments marins pollués par des hydrocarbures. *Thèse Doctorat d'État*, Université d'Aix - Marseille-II, 190 pp.
- Schonheit P., J. K. Kristjansson et R. K. Thauer (1982). Kinetic mechanism for the ability of sulfate reducers to out-compete methanogens for acetate. *Arch. Microbiol.*, **132**, 285-288.
- Seitzinger S. P. (1988). Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems: ecological and geochemical significance. *Limnol. Oceanogr.*, **33**, 702-724.
- Skyring G. W. (1987). Sulfate reduction in coastal ecosystems. *Geomicrobiol. J.*, **5**, 295-374.
- Slawyk G. et J. J. Mac Isaac (1972). Comparison of two automate ammonium methods for short-term measurement of soil denitrification and its evaluation using nitrogen-13. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **42**, 611-615.
- Sørensen J. (1978). Capacity for denitrification and reduction of nitrate to ammonia in a coastal marine sediment. *Appl. environ. Microbiol.*, **35**, 301-305.
- Sørensen J. (1987). Nitrate reduction in marine sediments: pathways and interaction with iron and sulfur cycling. *Geomicrobiol. J.*, **5**, 401-421.
- Sørensen J. et E. Glob (1987). Influence of benthic fauna on trimethylamine concentrations in coastal marine sediments. *Mar. Ecol. Prog.-Ser.*, **39**, 15-21.
- Strickland J. D. et T. R. Parsons (1968). A practical handbook of seawater analysis, *Bull. Fish. Res. Bd. Can.*, **167**, 370.
- Westermann P. et B. K. Ahring (1987). Dynamics of methane production, sulfate reduction, and denitrification in a permanently waterlogged alder swamp. *Appl. environ. Microbiol.*, **53**, 2554-2559.