

Cette communication ne peut être citée sans autorisation préalable des auteurs

Conseil International pour
l'Exploration de la Mer.

C. M. 1980 / L : 46
Comité de l'océanographie
biologique

Etude de la biomasse bactérienne dans le bassin
de Marennes-Oléron

par

M. HERAL* et J. PROU**

RESUME : Une étude saisonnière de la microflore totale montre que les germes hétérotrophes présentent une évolution saisonnière marquée : en automne et hiver, remise en suspension et dégradation bactérienne du matériel détritique ; au printemps et en été croissance bactérienne provoquée par la dégradation du phytoplancton. En été, les entérocoques mettent en évidence une pollution estivale certaine. La survie sur la vase d'Escherichia coli et surtout des entérocoques indique que ce substrat est particulièrement favorable à la prolifération des germes.

ABSTRACTS : A seasonal study of total microflora shows that heterotrophic germs are subjected to a distinctive evolution in autumn and winter suspension and degradation of detritic material; in spring and summer bacterial growth due to degradation of phytoplankton. In summer enterococci give evidence of positive summer pollution. Survival on the mud of Escherichia coli and overall of enterococci indicates that the substratum is particularly suitable to germ proliferation.

* I.S.T.P.M. Laboratoire de cultures marines
Mus de Loup 17390 LA TREMBLADE

** I.S.T.P.M. Inspection sanitaire
Mus de Loup 17390 LA TREMBLADE

L'étude de la nutrition de l'huître dans le bassin de Marennes-Oléron se compose d'une part d'un travail sur le métabolisme et la physiologie de l'huître (DIESLOUS-PAOLI et HERAL 1980) et d'autre part d'une analyse de la qualité et de la quantité de la nourriture disponible. Après avoir caractérisé la matière organique particulaire (HERAL et RAZET, 1977) et quantifié la nourriture potentielle particulaire utilisable par les mollusques (HERAL et al., 1980) nous nous sommes attachés à préciser l'importance de la matière organique dissoute (FEUILLET et al., 1979) susceptible d'être assimilée directement par les mollusques.

L'étude de la matière organique particulaire a montré le rôle primordial du seston d'origine détritique. Il était donc nécessaire de mieux percevoir ce matériel en étudiant la biomasse bactérienne associée.

En effet, les bactéries ont besoin, pour se développer de molécules organiques déjà synthétisées. BELL et MITCHELL (1972) ont montré que la croissance bactérienne dans des cultures d'algues est d'autant plus rapide que l'âge des cultures augmente et que la lyse des cellules algales est évidente. HERBLAND (1974) avance que lorsque la population phytoplanctonique vieillit, il se produit une libération de molécules organiques dissoutes qui entraîne une activité bactérienne intense. De même DAULAS et BIANCHI (1972) ont mis en évidence deux phases distinctes dans la désintégration des algues unicellulaires : la première concerne le matériel cytoplasmique, elle est immédiate et de courte durée, l'autre plus lente s'adresse aux constituants liés aux structures même des cellules. C'est pourquoi il est nécessaire de mettre en parallèle la biomasse phytoplanctonique, les substances dissoutes et les apports détritiques, avec la biomasse bactérienne. L'étude des coliformes fécaux et des entérocoques précisera l'importance des rejets telluriques. Il était aussi nécessaire de savoir si ces apports jouent un grand rôle dans la nutrition bactérienne de l'huître.

En effet, nombreux sont les travaux qui ont mis en évidence le rôle des bactéries dans la nutrition de mollusques marins. Par exemple, ZO BELL et FELTHAM (1938) ont montré que la moule Mytilus californis peut être maintenue pendant plusieurs mois à un régime uniquement à base de bactéries. ODUM et HEALD (1972) ont mis en évidence le rôle important des bactéries et champignons qui, associés à des

débris de feuilles de mangroves, peuvent être à la base de la nutrition de la moule.

Méthodes d'étude

Les prélèvements d'eau sont assurés au centre du bassin de Marennes-Oléron en un point fixe. A proximité de cette station règne une forte activité conchylicole. Ce point central a été choisi après un calcul mathématique (HERAL et al. 1978) qui a mis en évidence que cette station est représentative des eaux du centre du bassin. Les prélèvements sont assurés en demi-cycle de marée, en surface uniquement. Les résultats présentés dans cette note correspondent à la moyenne des valeurs de 4 prélèvements. Les échantillons sont prélevés deux fois par mois, en vives eaux et en mortes eaux. Les prélèvements de vase sont effectués lors des marées de vives eaux, à proximité de cette station, sur le parc conchylicole de Dagnas. Les huîtres analysées proviennent de nos élevages expérimentaux situés sur le même parc.

Microflore totale :

La numération des populations bactériennes hétérotrophes aérobies est effectuée par la méthode d'extinction dilution sur le milieu 2216E d'OPPEN-REIMER et ZOMELL (1952). Lesensemencements de chaque dilution sont effectués en 5 exemplaires pour avoir une meilleure précision comme l'indique HUSSENOT (1972). Les tubes sont laissés à la température du laboratoire et lus 15 jours après l'incubation. Le dénombrement s'effectue par le calcul du nombre caractéristique en utilisant ensuite pour déterminer le "Most-probable Number" les tables de MAC GRADY selon la méthode recommandée par POCHON et TARDIEUX (1962).

Coliformes totaux :

Rappelons que les coliformes sont des bactéries aérobies ou anaérobies facultatives gram négatives, non capsulées et capables de fermenter le lactose avec production de gaz en 48 heures. L'ensemencement s'effectue sur un bouillon lactose bilité au vert brillant avec une cloche de DURHAM. Des séries de trois tubes sont ensencées et l'incubation est effectuée à l'étuve à 30°C. Après le dénombrement des tubes lactosés positifs, le nombre le plus probable est déterminé grâce à la table de MAC GRADY.

Escherichia coli

Ce coliforme à pouvoir indologène se développe à 44°. Il est cultivé sur deux milieux à la fois : sur bouillon lactose bilié au vert brillant à simple concentration avec une cloche de DURHAM et sur milieu d'eau peptonée exempte d'indol. Les tubes restent 24 heures dans un bain-marie thermostaté à 44°C. L'indol est mis en évidence par la naissance d'un anneau de coloration rouge après addition de quelques gouttes du réactif de KOWACS. La présence d'Escherichia coli n'est constatée que si les deux séries de tubes sont simultanément positives.

Streptocoques fécaux :

Les tests présomptifs sont effectués sur le milieu de ROTHE puis est réalisé un test confirmatif sur le milieu de LITSKY. Le milieu de ROTHE est un milieu sélectif qui permet le développement de rares espèces. Il contient plus particulièrement de l'azothydrate de sodium qui inhibe la croissance des bacilles gram négatifs et des gram positifs, exception faite de streptocoques fécaux. Le milieu de LITSKY est plus sélectif car l'azothydrate de sodium est renforcé par la présence d'éthyl violet.

Résultats :

microflore totale :

- eau : les 5 pics de prolifération bactérienne (fig. 1) d'amplieurs inégales ont chacun des causes différentes. Au mois de mars, et au mois de novembre, avec des teneurs supérieures à $1,3 \times 10^6$ germes ml^{-1} , il se produit une remise en suspension du matériel détritique avec des sestons respectivement de 250 et de 150 mg l^{-1} . Le pic automnal correspond à la forte augmentation en germes de la vase. Les grandes marées d'équinoxe, ainsi que le mauvais temps associé, provoque un brassage important des fonds. Les trois autres pics principaux, supérieurs à 50 000 bactéries par ml ; sont liés au phytoplancton. Quinze jours après la poussée phytoplanctonique on constate une nette augmentation de la matière organique dissoute et, le prélèvement suivant, un développement bactérien notable à lieu. Ceci est le cas en mai avec le phytoplancton du bassin et en juillet avec le phytoplancton océanique. Il est à noter en outre que les valeurs obtenues en basse mer, sont significativement plus fortes que celles correspondant aux pleines mers et ce, en particulier en vives eaux à cause du brassage des fonds (fig. 1).

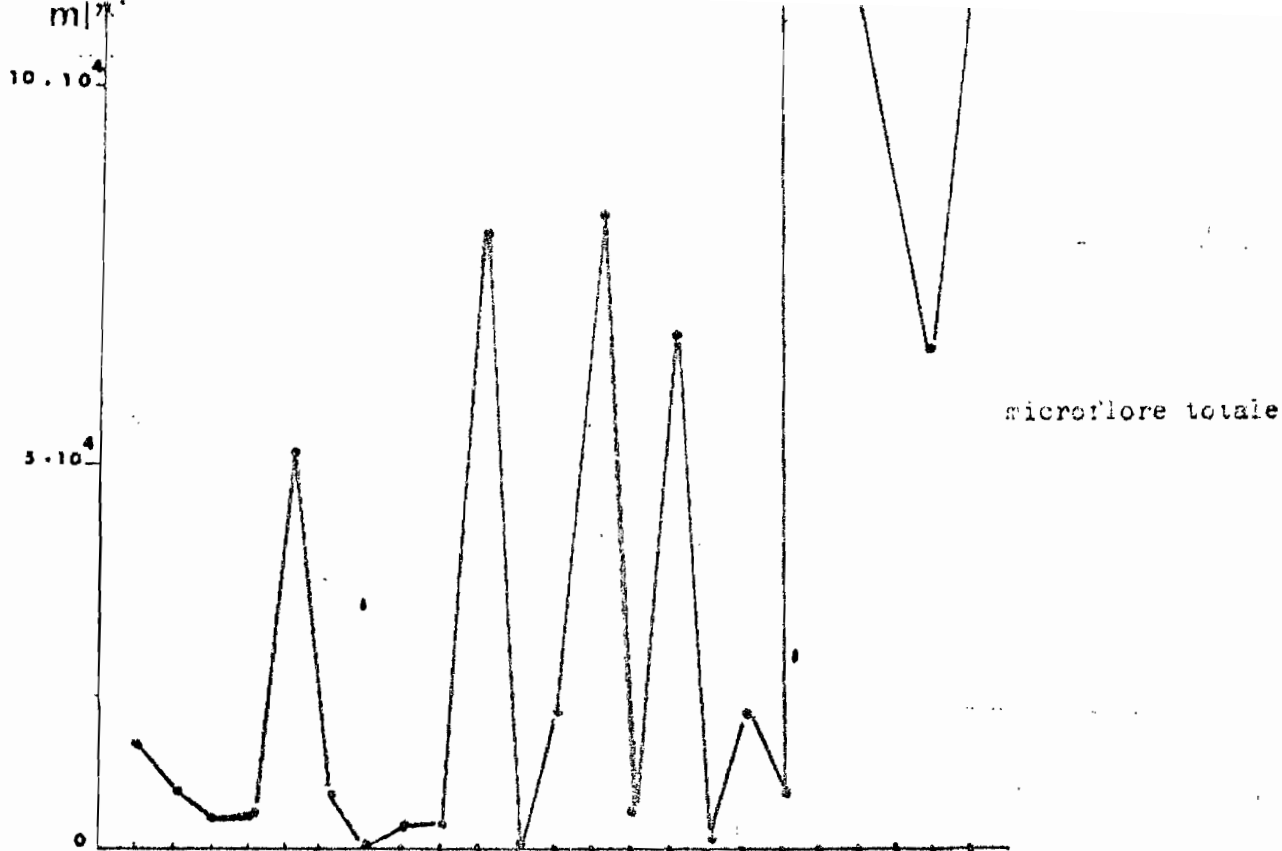


Fig. 1 Variation des teneurs en germes totaux par ml d'eau

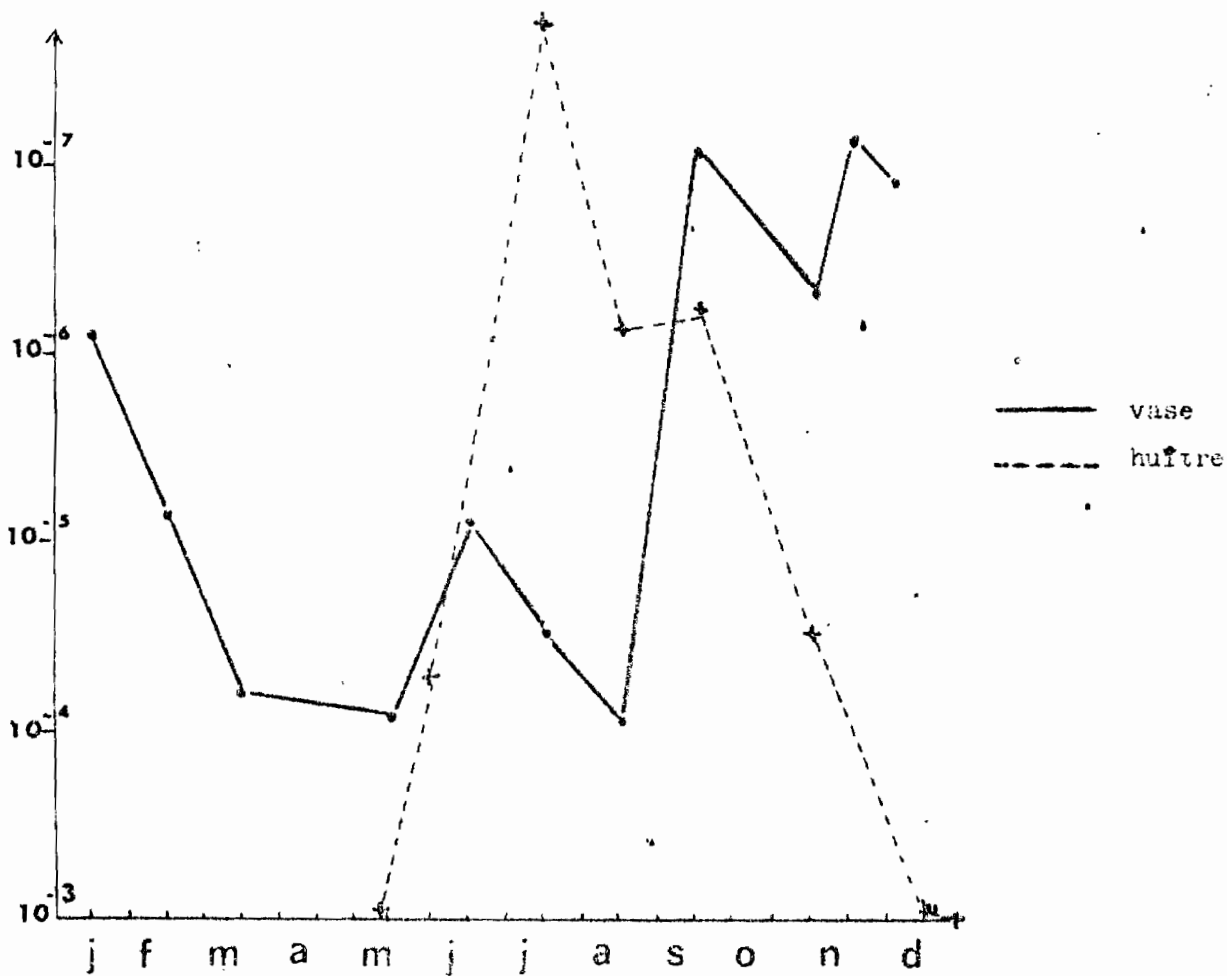


Fig. 2 Evolution de la microflore totale de la vase

- vase : L'évolution saisonnière des teneurs en germes totaux de la vase des parcs conchylicoles est très marquée (fig. 2) Au minimum printanier, succède un maximum automnal qui se maintient tout l'hiver avec plus de 2×10^7 germes gr^{-1} de sédiment. Cette forte valeur peut être due à l'accumulation de matières organiques réjctée par les huîtres sous forme de feces et de pseudofeces pendant l'été, période où les huîtres filtrent la plus grande quantité d'eau (température élevée et faible seston détritique). La dégradation de la matière organique ne s'effectue que lentement. On peut constater d'ailleurs, à cette période, une augmentation notable de la teneur en hydrogène sulfuré ($28 \text{ mg } l^{-1}$ dans l'eau surnageante) ce qui est révélateur d'une mauvaise minéralisation dans le sédiment. ITO et IMAI (1955) et KUSUKI (1977) ont trouvé des résultats du même ordre, à propos de la détérioration des sols des parcs ostréicoles. A l'automne et en hiver avec le brassage engendré par les forts courants et les mauvaises conditions météorologiques, la matière détritique est remise en suspension, favorisant ainsi une prolifération bactérienne et une minéralisation de la matière organique liée à la vase.

- Huître : Si l'on prélève rapidement 100 ul du contenu stomacal d'huître de 18 mois et si l'on numère la microflore totale on constate (fig. 2) en été une forte concentration de germes dans l'estomac de Crassostrea gigas avec un facteur de concentration au mois de juillet de 870 par rapport à l'eau et de 1 400 par rapport à la vase. Cette concentration ne s'effectue pas en hiver, où l'on ne trouve que quelques centaines de germes par ml de contenu stomacal.

Coliformes et Escherichia coli : (fig. 3)

Les coliformes sont présents lors de chaque pic de seston hivernal avec un maximum de 200 coliformes par 100 ml. Escherichia coli présente exactement le même comportement. Les teneurs en E. coli restent très faibles, elles ne sont jamais supérieures à 30 pour 100 ml. Ceci confirme, qu'outre la remise en suspension de matière détritique, en hiver, il se produit des apports telluriques. On constate que les apparitions de E. coli sont fugaces et que sur la vase du parc, il ne se produit pas d'accumulation notable (pas de valeurs supérieures à 30 par gramme de vase). Ces résultats confirment ceux trouvés par de nombreuses équipes, en particulier OGAWA (1974) qui estime que E. coli décroît en milieu marin par manque de nourriture plutôt que par action antibiotique de l'eau de mer. OGAWA (1977) précise que E. coli forme, par l'absorption de cations

100 ml⁻¹

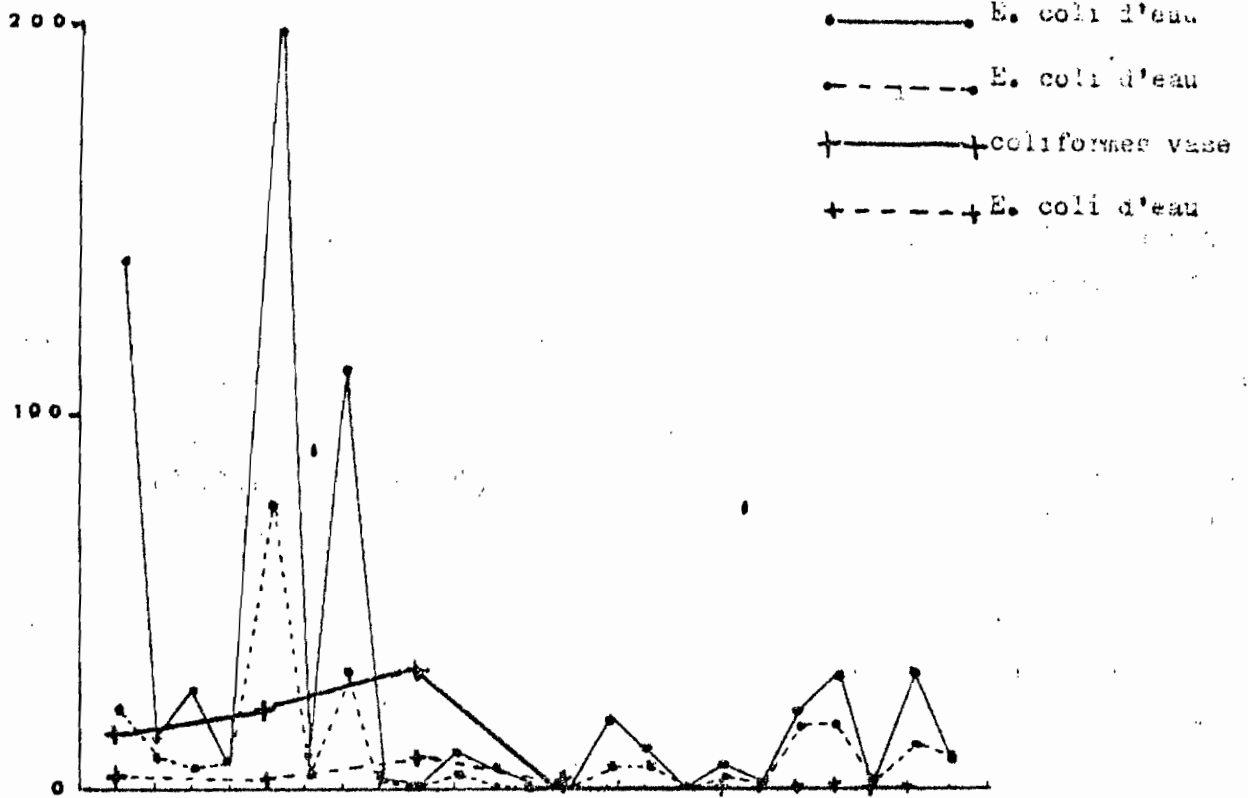


Fig. 3 Variations des teneurs en coliformes et E. coli par 100 ml d'eau et par gramme de vase.

100 ml⁻¹

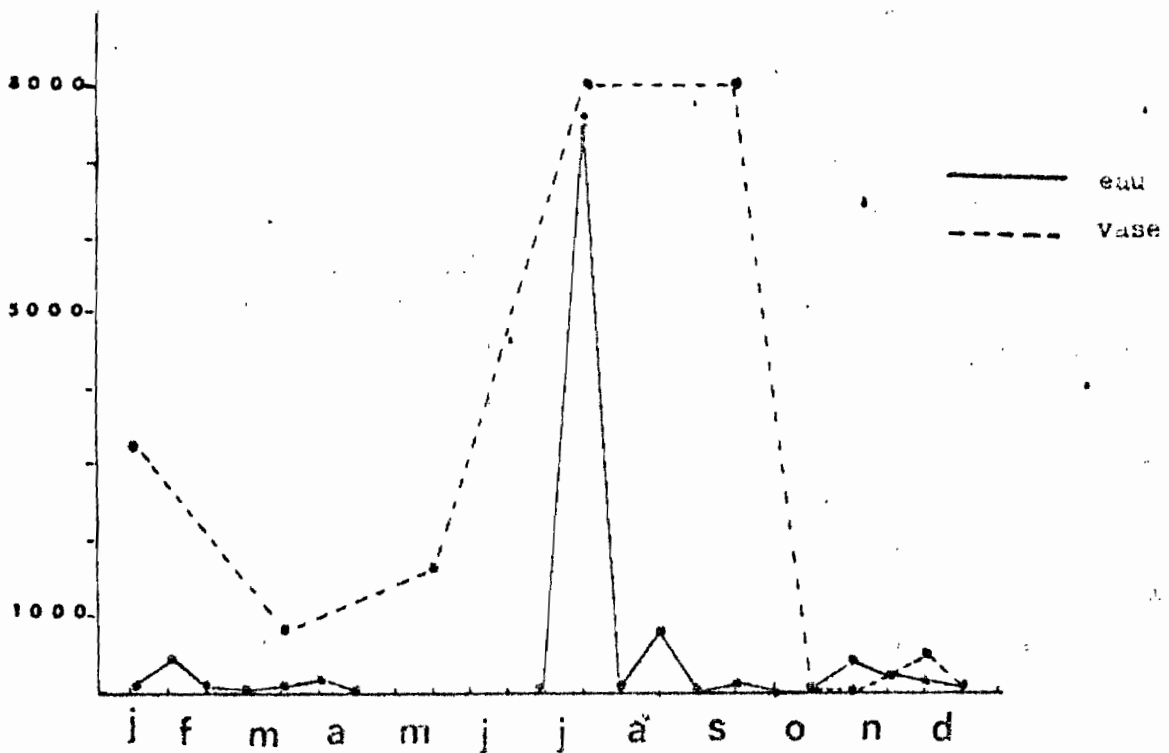


Fig. 4 Variations des teneurs en entérocoques par 100 ml d'eau et par gramme de vase.

divalents, (Ca^{++} , Mg^{++}) des micelles qui, en s'associant avec la matière organique dissoute, floccule et sédimente sur la vase, où cette bactérie ne peut survivre que si elle trouve des conditions favorables.

Enterocoques :

Les présences hivernales d'entérocoques dans l'eau restent faibles, elles sont liées aux coliformes et peuvent être expliquées par les mêmes phénomènes. Par contre il apparaît nettement une contamination (fig. 4) des eaux estivales en juillet et en août alors que les sédiments ne sont guère remis en suspension.

La contamination des vases est bien corrélée avec celle de l'eau (fig. 4), mais la survie des entérocoques paraît plus longue sur la vase où les conditions trophiques doivent être plus favorables pour cette espèce. BALEUX 1979 a effectué le même type d'observation dans des milieux lagunaires. Il apparaît donc que, dans une optique de contrôle de l'état sanitaire d'un secteur côtier, l'étude de la contamination de la vase est intéressante à poursuivre car elle représente en quelque sorte une résultante des différentes masses d'eau éventuellement contaminées, qui circulent dans ce milieu.

Discussion :

Nous avons mis en évidence que la vase est un milieu particulièrement riche en bactéries hétérotrophes. A l'automne et en hiver, le brassage des fonds, pendant les grandes marées, permet d'expliquer les fortes teneurs en bactéries rencontrées dans l'eau. Par contre au printemps, les proliférations bactériennes ne sont pas liées à la teneur en seston, mais semblent dépendre des poussées phytoplanctoniques et de la teneur en matière organique dissoute.

Il faut signaler comme le précise YANADA et MAITA (1978) que nous ne possédons que peu d'informations sur les procédés de décomposition de la matière organique particulaire. Mais HANADA et TOMINAGA (1969) et PARSONS (1975) ont signalé que ce rapport C/N de la matière organique varie entre 5 et 10 pour du phytoplancton vivant et ce rapport augmente notablement lorsque cette matière organique se dégrade. Nous trouvons des valeurs de C/N (HERAL et ali. 1980) inférieures à 10, d'avril à octobre,

et nettement supérieures à 10 pendant la phase hivernale et après la poussée de phytoplancton de l'été. Ceci confirme qu'en hiver la matière organique détritique particulière, remise en suspension, est en voie de dégradation.

L'effet des substances dissoutes, excrétées par le phytoplancton, sur la croissance bactérienne est sujet à caution. En effet quelques auteurs, et en particulier l'équipe de AUBERT (1978) ont publiés de nombreux travaux sur l'effet antibiotique et inhibiteur de certaines algues phytoplanctoniques envers la croissance des bactéries. Cependant BERLAND, BOHIN et MAESTRINI (1974) ont démontré que les substances antibiotiques excrétées par les cellules phytoplanctoniques sont présentes, mais à des doses trop faibles pour pouvoir agir dans le milieu naturel. Il semble donc que les bactéries hétérotrophes utilisent comme source de nourriture, d'une part la matière organique dissoute excrétée par le phytoplancton ou rapidement émise dans l'eau à la mort des cellules, d'autre part les constituants des parois cellulaires après une hydrolyse enzymatique.

Conclusion :

Dans cette note sur l'étude de la biomasse bactérienne dans le bassin de Marennes-Oléron nous avons pu mettre en évidence que :

1°) la microflore totale de l'eau est en relation l'hiver et l'automne avec la remise en suspension et la dégradation bactérienne de la matière organique particulière détritique . En été la croissance bactérienne semble liée, avec un décalage, aux poussées phytoplanctoniques et aux substances dissoutes qui en dépendent.

2°) Les germes hétérotrophes de la vase d'un parc conchylicole présentent une évolution saisonnière marquée avec un maximum automnal

3°) L'huître, en été semble concentrer la microflore totale d'un facteur 1 000 dans son estomac. Cette accumulation, à la période où Crassostrea gigas filtre le plus d'eau et à l'époque où l'eau est la moins turbide, semble indiquer que ces bactéries peuvent jouer un rôle non négligeable dans la nutrition de l'huître.

4°) Les apports telluriques hivernaux restent faibles. Les teneurs en Escherichia coli ne dépassent que rarement 100 individus pour 100 ml.

5°) La présence d'entérocoques en été révèle une pollution estivale certaine.

6°) La présence sur la vase d'Escherichia coli et surtout des entérocoques indique que ce substrat est particulièrement favorable à la survie des bactéries pathogènes.

7°) Les entérocoques, à cause de leur survie dans le milieu marin sont des bons indicateurs des apports telluriques.

On peut remarquer enfin que les coliformes et les entérocoques ne peuvent jouer qu'un rôle minime dans la nutrition de l'huître car ils ne représentent qu'une infime partie de la microflore totale (de 10^{-3} à 10^{-5})

.../...

- AUBERT M. 1978. Télémédiateurs et rapports inter-espèces dans le domaine des micro-organismes marins. In colloque du GABIM - 18 - 19 novembre 1976 CNRS
- BALEUX B., CAUHEPTE P., TROUSSELIE M., 1979 Ecologie bactérienne comparée de quelques étangs saumâtres méditerranéens et atlantique. Société française de microbiologie - congrès de microbiologie marine octobre 1979 Marseille.
- BELL W. et MITCHELL R. 1972. Chemotactic and growth responses of marine bacteria to algal extracellular products. Biol. Bull. 143 : 265 - 277
- BERLAND B. R., BOUIN D. J. et MAESTRINI S. Y. 1974. Etude expérimentale de l'influence de facteurs nutritionnels sur la production du phytoplancton de Méditerranée. Thèse Sciences Naturelles, Université d'Aix - Marseille 205 pp.
- DAUMAS R. et BIANCHI A. 1972. Modifications des constituants cellulaires au cours de la dégradation du phytoplancton par les bactéries, étude en enceinte dialysante. Tethys 4 (1) 1972 : 27 - 36
- HERAL M., BERTHOUD J. P., RAZET D. et GARNIER J. 1978. Etude hydrobiologique du bassin de Marennes-Oléron. Un exemple : la sécheresse de l'été 1976. Rev. Trav. Inst. Pêches Marit. 42 (4) : 269 - 290
- HERBLAND A., 1974. Activité bactérienne dans l'upwelling mauritanien, relation avec l'oxygène et la matière organique. Tethys 6 (1 - 2) pp. 203 - 212
- HUSSENOT J. 1972. Contribution à l'écologie des eaux stagnantes : étude de l'étang de Barbillon (Sologne). Mesure de la production bactérienne des eaux. Thèse 3ème cycle Univ. Orléans 100 p.
- ITO S. et IMAI T. 1955. Ecology of oyster bed. Tohoku J. Agri. Res. 5,4 : 251 - 268
- KUSUKI 1977. Fundamental studies on the deterioration of oyster growing grounds. I production of faecal material by the Japanese Oyster. Bul. Jap. Soc. Sci. Fish. 43 - 2 : 163.

- ODUM W. E. et HEALD E. J. 1972. Trophic analysis of an estuarine mangrove community
Bul. Marine Sci. 22,3 : 671 - 738
- OGAWA K. 1974. Some factors affecting the survival of coliform bacteria in seawater.
J. Oceano. Soc. Jap. 30 : 54 - 60
- OGAWA K. 1977. Primary participation of fecal bacteria in the formation of suspended
organic matter in the sea. I ion adsorption and floe formation by
Escherichia coli. Bul. Jap. Soc. Sci. Fish. 43 - 9 : 1081 - 1088
- OPPENHEIMER C. H. et ZOBELL C. E. 1952. The growth and viability of sixty three species
of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. J. Mar. Res;
11 : 10 - 18
- POCHON et TARJIEUX 1962. Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Coll. "techniques
de base" Ed. de la Tourelle St Mandé
- YANADA H. et MAITA Y. 1978. Production and décomposition of particulate Organic matter
in Funku Bay. Japan. Estuarine Coastal Marine Science 6 : 523 - 533
- ZOBELL C. E. et FELLHAM C. B., 1938. Bacteria as food for certain marine invertebrates
J. mar. Res. 1 : 312 - 327.