

68

INFLUENCE D'UNE POLLUTION CHIMIQUE PAR L'APATITE SUR LES PEU- PLEMENTS BACTERIENS DU GOLFE D'AQABA (JORDANIE)

E. VACELET

Station Marine d'Endoume, rue Batterie des Lions, 13007 MARSEILLE (FRANCE)

RÉSUMÉ - L'influence de l'apatite sur la densité et l'activité du peuplement bactérien n'est pas significative (sur le nombre total de germes) ou significative mais faible (sur le nombre de germes qui cultivent et qui sont plus nombreux dans la zone polluée). Elle se traduit également par une augmentation significative de l'activité bactérienne (taux de division et activité enzymatique), mais elle est difficilement dissociable de l'action des effluents urbains. Aucune action des bactéries sur la solubilisation de l'apatite n'a pu être mise en évidence.

Mots clés : pollution - phosphate - bactérie - golfe d'Aqaba.

ABSTRACT - The influence of spillage of phosphates on the bacterial population and its activity was found to be not significant (on total number) or significant but low (on the number of growing cells which was higher close to the loading area). Phosphate discharge resulted also in a significant increase of dividing cells ratio and of enzymatic activity but its effects could be hardly separated from sewage effects. Neither solubilizing strains nor bacterial solubilization could be detected.

Key words : pollution - phosphate - bacteria - gulf of Aqaba.

INTRODUCTION

Le port d'Aqaba est le lieu de chargement du minerai de phosphate (apatite = $\text{Ca}_3(\text{P}_2\text{O}_5)_2$) provenant des mines jordaniennes. Ce chargement se fait par un dispositif qui laisse échapper la poussière d'apatite. La quantité ainsi déversée dans le golfe a été estimée à 1-2 tonnes par chargement ; le nombre de bateaux transportant le minerai étant d'environ 200 par an (Walker and Ormond, 1982), on peut calculer un déversement annuel de 2 à 400 tonnes. Les vents dominants de N-NE entraînent le nuage d'apatite sensiblement dans l'axe du golfe vers le sud sur une distance d'environ 1 km. Ce déversement a des effets visibles sur les peuplements benthiques : les coraux qui étaient implantés dans la zone de chargement présentent un taux de mortalité très élevé et on observe un fort développement algal dans la zone du chargement des phosphates. D'autre part, les concentrations en phosphates sont nettement augmentées par rapport au centre du golfe et par rapport à la côte israélienne. On estime (Walker and Ormond, 1982) que la concentration est multipliée par 3,3 dans la zone polluée. Levanon-Spanier (1979) donne des concentrations en phosphates qui varient de 0,02 à 0,68 $\mu\text{g} \cdot \text{at} \cdot \text{l}^{-1}$ en surface au centre du golfe. Freemantle *et al.*, (1978) signalent des concentrations de 0,3 à 0,7 $\mu\text{at} \cdot \text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ dans la partie jordannienne du golfe. Hashwa (1980) signale une augmentation de la biomasse bactérienne dans la zone polluée.

La question posée était de savoir si le peuplement bactérien intervenait dans le processus de solubilisation et si, d'autre part, il était modifié dans sa densité et son activité par la présence de phosphates ou par la présence d'un émissaire proche de la zone de chargement.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- **localisation des prélèvements** (voir carte) : quatre radiales ont été choisies dans le golfe d'Aqaba, partant respectivement des points 1, 2, 3, 4 :

1 : "phosphate" à proximité immédiate de l'usine de chargement des phosphates.

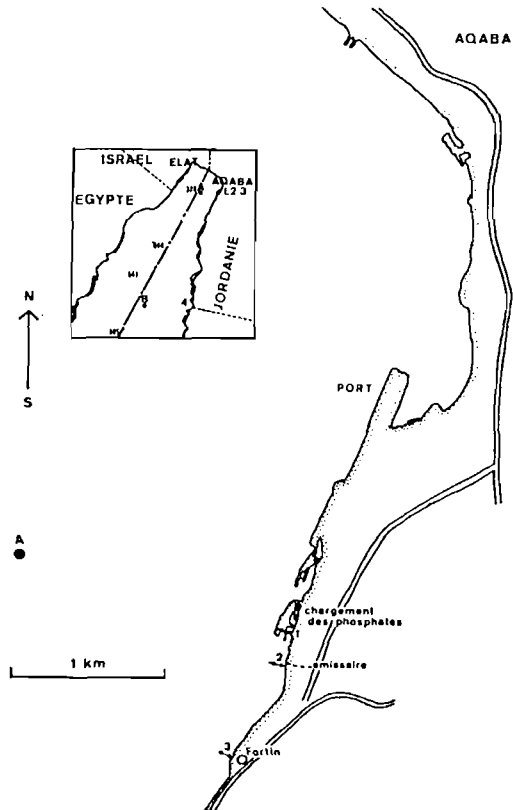
2 : "émissaire" au débouché d'un petit effluent, à 200 m de l'aire de chargement des phosphates afin d'étudier l'influence éventuelle d'un apport de matière organique.

3 : "fortin" à l'aplomb du poste de police et à 1 km de l'usine. Cette station est très proche de falaises sous-marines profondes.

4 : "frontière" à la limite sud du territoire jordanien, à 19 km de l'usine, cette station est située dans une baie occupée par un herbier de phanérogames.

On a prélevé à 100 m du bord en surface, à 10 m en surface, à 10 m de profondeur et dans le sédiment, sur chaque radiale. Deux séries de prélèvements ont été effectuées à 15 jours d'intervalle.

Deux points de référence A et B ont été pris dans le prolongement des radiales 1 et 4 près de la frontière au centre du golfe.



- dosage des phosphates

Méthode de Murphy et Riley, 1962.

- paramètres caractérisant la population bactérienne

Le nombre total de germes a été déterminé par une méthode directe (microscopie électronique à balayage après fixation, concentration sur filtre, déshydratation, passage

au point critique et métallisation ; 10 champs sont comptés pour chaque numération). Le nombre de germes qui cultivent a été déterminé par culture sur milieu solide (eau de mer peptonée à 2,5 g. l⁻¹) en triplicata et en milieu liquide (même milieu) par la méthode du NPP (méthode du nombre le plus probable).

Le nombre de germes poussant en présence d'apatite a été recherché par culture sur eau de mer peptonée à 2,5 g. l⁻¹ additionnée d'1 g. l⁻¹ d'apatite. Les germes solubilisant l'apatite ont été recherchés dans un milieu solide chargé d'apatite (recherche d'un halo clair). L'influence du rapport N/P sur la culture des germes a été recherchée par culture sur milieu contenant 2,5 g. l⁻¹ de peptone, 1 g. l⁻¹ d'apatite et 0,3 g. l de nitrate de sodium. L'action bactérienne sur la solubilisation de l'apatite a été recherchée par dosage des phosphates dans les tubes positifs et négatifs ensemencés pour la recherche du NPP.

L'activité bactérienne a été estimée par détermination du pourcentage de cellules en division (MEB) et par détermination de l'activité enzymatique de la population par APIZYM (Vacelet, 1985), méthode qui permet de mettre en évidence et d'estimer l'activité d'une vingtaine d'enzymes (hydrolases) directement dans le prélèvement, en évitant toute culture intermédiaire.

Le traitement des données sur les bactéries a été fait après transformation normalisante (log).

RESULTATS

L'ensemble des résultats est résumé dans le tableau ci-après :

Stations	"phosphate"	"émissaire"	"fortin"	"frontière"	références A et B2
Phosphates at. $\mu\text{g. l}^{-1}$	1,15 \pm 0,63 n = 6	1,69 \pm 2,05 n = 6	0,45 \pm 0,07 n = 6	0,46 \pm 0,004 n = 6	0,73 \pm 6,43 n = 3
Log nb bactéries X ml ⁻¹ total	6,90 \pm 1,07 n = 8	6,83 \pm 1,43 n = 8	6,39 \pm 1,06 n = 8	6,74 \pm 2,18 n = 4	5,66 \pm 0,34 n = 3
cultivables	4,53 \pm 0,32 n = 40	4,12 \pm 0,30 n = 40	3,89 \pm 0,30 n = 40	3,39 \pm 0,26 n = 8	2,73 \pm 0,12 n = 3
log nb bactéries cultivables surface 100 m	4,48 \pm 0,79 n = 12	3,63 \pm 0,72 n = 12	3,93 \pm 0,68 n = 12	3,92 \pm 4,42 n = 3	
surface 10 m	4,33 \pm 0,65	4,27 \pm 0,68	4,08 \pm 0,49	4,47 \pm 3,49	
fond 10 m	4,45 \pm 0,69 n = 12	3,83 \pm 0,52 n = 12	4,01 \pm 0,47 n = 12	4,29 \pm 3,84 n = 3	
sédiment	6,37 \pm 0,77 n = 12	5,89 \pm 0,75 n = 12	5,37 \pm 1,02 n = 12	5,34 \pm 7,48 n = 3	
activité bactér. % Cel. en division	12,1 \pm 6,6 n = 8	12,03 \pm 7,09 n = 8	7,32 \pm 3,65 n = 8	7,10 \pm 7,58 n = 4	10,25 \pm 15,87 n = 3
% Cel. cultivables (boîtes)	5,0 \pm 7,8 n = 8	0,8 \pm 1,2 n = 8	4,3 \pm 3,4 n = 8	7,1 \pm 6,5 n = 4	0,12 \pm 0,48 n = 3
activité enzym. Nbre d'enzymes	7,75 \pm 0,79 n = 8	7,75 \pm 2,00 n = 8	5,00 \pm 3,18 n = 8	6,25 \pm 1,52 n = 4	3,50 \pm 15,05 n = 3
act. enzymatique	3,25 \pm 0,63 n = 8	3,62 \pm 1,98 n = 8	2,18 \pm 1,60 n = 8	2,62 \pm 0,51 n = 4	1,12 \pm 14,28 n = 3

- concentrations en phosphates

Elles permettent de délimiter deux zones : l'une à concentration élevée et à fortes variations, comprenant les stations "phosphate" et "émissaire" et sans doute la réf. A qui est sous le nuage d'apatite (la différence entre les concentrations moyennes de ces deux radiales n'est pas significative : $t_{\text{obs}} = 0,65 < t_{0,50} = 0,71$ où les valeurs observées dépassent les plus fortes valeurs signalées dans cette zone; l'autre à concentration moyenne pour le golfe et plus stable (les différences de moyennes avec la première zone sont significatives au seuil de 80 % : $t_{\text{obs}} = \text{de } 1,46 \text{ à } 15,46 > t_{0,80} = 1,44$) comprenant les radiales "fortin" et "frontière".

L'influence du déversement est donc nette, mais elle est localisée à la zone proche de l'usine de chargement (stations "phosphate", et "émissaire"). Le nombre de prélèvements ne permet pas de mettre en évidence des différences significatives de concentration entre surface, profondeur, 10 m et 100 m de la côte. Cet enrichissement en phosphates est rapide : une expérience de confinement d'eau réalisée à côté de l'usine a montré que la concentration de l'eau bloquée dans une cloche est multipliée par 3 en 3 jours ; cet enrichissement peut d'ailleurs s'expliquer par simple dissolution qui peut aller jusqu'à $20 \mu\text{.atg.l}^{-1}$ dans l'eau de mer d'Aqaba (Freemantle *et al.* 1978).

- l'influence du peuplement bactérien sur la solubilisation de l'apatite a été testée en comparant les concentrations de phosphates obtenues dans les tubes utilisés pour la détermination du NPP. Ces concentrations ne sont pas significativement différentes dans les tubes ayant donné une culture et dans les tubes restés négatifs ($t_{\text{obs}} = 0,11 < t_{0,10} = 0,12$). Il ne semble donc pas y avoir d'influence bactérienne *in vitro* sur la dissolution des phosphates. D'autre part, il n'a pas été possible de mettre en évidence des souches capables de solubiliser l'apatite.

- Influence des phosphates sur le peuplement bactérien.

Le nombre moyen de germes obtenus en MEB est de l'ordre de 10^6 ml^{-1} pour les différentes radiales ; il est de l'ordre de 10^5 ml aux points de référence. Les différences entre concentrations moyennes sur les différentes radiales ne sont pas significatives au-delà d'un seuil de 60 % de sécurité ($t_{\text{obs}} = \text{de } 0,08 \text{ à } 0,77 < t_{0,60} = 0,88$). Seules les différences observées entre "phosphate" (ou "émissaire") et les stations de références sont significatives ($t_{\text{obs}} \text{ ("phosphate")} = 1,42 > t_{0,80} = 1,39$ et $t_{\text{obs}} \text{ ("émissaire")} = 2,67 > t_{0,95} = 2,44$). L'influence des phosphates sur le nombre de germes total paraît donc faible, ce qui est confirmé par l'équation de la droite de régression ($\log \text{nb bactéries} = 0,0595\mu\text{.atg} \cdot \text{PO}_4 + 5,8864$) et le coefficient de corrélation médiocre ($r \pm 0,29 \text{ } 0,46$).

Le nombre moyen de germes obtenus par culture est plus variable et plus faible : il varie de 10^3 à 10^4 ml sur les différentes radiales et il est de l'ordre de 10^2 ml^{-1} aux stations de référence. Il n'est pas significativement différent dans les cultures sur boîtes et en milieu liquide ($t_{\text{obs}} = 0,07 < t_{0,10} = 0,12$) et n'est pas modifié significativement par l'enrichissement en azote ($t_{\text{obs}} = 0,45 < t_{0,40} = 0,52$).

La concentration en bactéries cultivables diminue de la station "phosphate" à la station frontière ; les différences observées entre radiales sont significatives pour les deux premières, moins quand on s'éloigne vers "frontière" ("phosphate-émissaire" : $t_{\text{obs}} = 1,79 > t_{0,90}$; "émissaire-fortin" : $t_{\text{obs}} = 1,06 > t_{0,70}$; "fortin-frontière" : $t_{\text{obs}} = 1,42 > t_{0,70}$; et "frontière-référence" : $t_{\text{obs}} = 3,34 > t_{0,99}$). Les stations les plus riches en phosphates ("phosphate" et "émissaire") sont également les plus riches en germes cultivables ; l'influence des phosphates est donc plus nette ici et se traduit par un coefficient angulaire plus

grand pour la droite de régression ($\log \text{nb bactéries} = 0,2091 \mu\text{atg PO}_4 + 3,7351$) et un coefficient de corrélation ($r = 0,43 = 0,20$) meilleur.

L'examen de la répartition des germes cultivables par niveau (surface, 10 m et sédiment) permet de préciser le rôle respectif des phosphates et de l'effluent :

- en surface, aux points les plus éloignés de la côte, le nombre moyen de germes est plus élevé à la station "phosphate". Les différences ne sont significatives qu'entre "phosphate" et "émissaire" ($t_{\text{obs}} = 1,78 > t_{0,90} = 1,73$), ce qui indique qu'à ce niveau, les phosphates influent probablement sur le nombre de bactéries ;

- en surface, aux points les plus proches de la côte, aucune influence n'est décelable (nombre moyen de bactéries cultivables non significativement différent entre radiales ($t_{\text{obs}} < t_{0,40}$ pour toutes les stations) ;

- à 10 m de profondeur près de la côte, le nombre de germes est significativement plus élevé à la station "phosphate" qu'à la station "émissaire" ($t_{\text{obs}} = 1,52 > t_{0,80} = 1,32$), l'influence des phosphates peut donc être considérée comme significative ;

- dans les sédiments, la même observation est à faire ($t_{\text{obs}} = 1,68 > t_{0,80}$ entre "phosphate" et "émissaire").

On voit donc que le nombre de germes cultivables est significativement augmenté à la station "phosphate" et surtout dans les niveaux en contact avec l'apatite (eau du fond et sédiment).

L'examen des paramètres de l'activité bactérienne : pourcentage de cellules en division, pourcentage des souches qui cultivent et activité enzymatique globale de la population apporte des précisions sur l'influence des phosphates sans toutefois la séparer de celle de l'émissaire.

La comparaison des pourcentages de cellules en division permet de séparer deux zones : la zone "phosphate-émissaire" où ce pourcentage est de $12 \pm 3,7 \%$ et la zone "fortin-frontière" où il est de $7 \pm 2,7 \%$ (différence significative : $t_{\text{obs}} = 2,14 > t_{0,95} = 2,06$). La présence des phosphates, ou de l'émissaire, augmente donc le taux de division de façon significative.

La comparaison de l'activité enzymatique, basée soit sur l'activité enzymatique globale, soit sur leur nature, montre que des différences significatives permettent d'isoler l'ensemble "phosphate-émissaire" ($t_{\text{obs}} = 0$) des autres stations ($t_{\text{obs}} = 2,82 > t_{0,98} = 2,58$), qui sont caractérisées par une activité globale élevée et par l'absence d'activité glycosidase.

- le pourcentage de cellules cultivables, paramètre récemment introduit pour tester l'état physiologique global d'une population, n'est pas utilisable ici du fait d'intervalles de confiance trop élevés.

CONCLUSION

La dispersion du minerai d'apatite lors de son chargement a pour effet d'augmenter de façon significative la concentration des phosphates dissous dans l'eau de mer, mais dans une aire limitée aux stations "phosphate" et "émissaire". Bien qu'aucune corrélation significative n'ait pu être mise en évidence entre concentration en phosphate et nombre ou activité des bactéries, ces deux stations sont significativement différentes des autres par le nombre de bactéries cultivables, le pourcentage de cellules en division et l'activité enzymatique qui y sont plus élevés. L'effet spécifique des phosphates est difficile à séparer de celui de l'émissaire, bien qu'une augmentation significative (mais toujours faible) de la densité bactérienne apparaisse dans les niveaux qui sont directement en contact avec la poussière

d'apatite : la surface, l'eau en contact avec le fond et le sédiment. D'autre part, l'activité de la microflore paraît sans effet sur la solubilisation des phosphates. Ces résultats montrent que l'effet destructeur de l'apatite sur les coraux peut difficilement être expliqué par l'intermédiaire des bactéries ; l'effet direct de l'hypersédimentation reste l'hypothèse la plus vraisemblable.

REMERCIEMENTS

Je remercie J. Jaubert de l'université de Nice pour m'avoir donné la possibilité d'effectuer ce travail. Je remercie également la station Marine d'Aqaba pour avoir assuré le support logistique de cette mission et son personnel pour son aide dévouée sur le terrain, ainsi que le Dr Hashwa de l'Université d'Amman pour son accueil et sa coopération.

FREEMANTLE M.H., HULINGS N., MULQI M., WATTON E.C., 1978. Calcium and phosphate in the Jordan Gulf of Aqaba. *Mar. Poll. Bull.*, 9 (3): 79-80.

HASHWA F., 1980. The phosphate pollution in the Gulf of Aqaba. *Proc. Symp. on the coastal and marine environment of the Red Sea, Gulf of Aden and tropical western Indian Ocean, Khartoum 9-14 June 1980*, vol. II. University of Khartoum.

LEVANON-SPANIER I., PADAN E., REISS Z., 1979. Primary production in a desert-enclosed sea, the Gulf of Elat (Aqaba) Red Sea. *Deep Sea Res.* 26 (6a): 673-685.

MURPHY T., RILEY J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chim. Acta.* 27 31-36.

VACELI T.E., 1985. Quelques exemples de l'utilisation de l'Apizym en écologie. *Rapp Comm. Int. Mer Médit.* 29 (6): 23-24.

WALKER D.I., ORMOND R.F.G., 1982. Coral death from sewage and phosphate pollution at Aqaba, Red Sea. *Mar. Poll. Bull.* 13 (1): 21-25.