

Dégradation bactérienne de la matière organique dans les eaux de mer : approche par les marqueurs biogéochimiques

Acides gras
Bioaccumulation
Interface air-mer
Interface eau-sédiment-eau interstitielle
Interface eau-particules

Bacterial degradation of organic matter in seawater : use of biogeochemical markers

Saliot A., Andrié C., Jullien D., Lorge A., Marty J.C. et Scribe P.
Laboratoire de Physique et Chimie Marines
de l'Université Pierre et Marie Curie,
ERA CNRS, Tour 24, 4, placé Jussieu,
75230 Paris cedex 05, France

RÉSUMÉ

Les micro-organismes jouent un rôle clé dans le cycle de la matière organique en milieu marin, tout particulièrement aux interfaces air-eau, eau-sédiment, eau-particules en suspension. Les bilans totaux en matière organique (C, N, P) peuvent être actuellement complétés par des analyses de marqueurs dont certains sont liés à l'activité bactérienne.

On discutera de l'évolution des concepts relatifs aux marqueurs bactériens due aux progrès de la détermination des structures moléculaires des acides gras saturés, insaturés, ramifiés et hydroxylés.

Différents bilans de matière organique et de marqueurs bactériens (acides, hydrocarbures) sont présentés :

- i) à l'interface air-mer, indiquant dans la microcouche de surface une exacerbation de l'activité bactérienne dans le matériel dissous par rapport au matériel particulaire
- ii) à l'interface eau-sédiment hauturier-eau interstitielle, où la présence d'abondantes colonies bactériennes est associée à de forts enrichissements de l'eau interstitielle en composés peu métabolisables tels les hydrocarbures aromatiques polycycliques
- iii) dans la colonne d'eau, à l'interface eau-particules, où la manifestation de l'activité bactérienne est différenciée selon la taille des particules et leur temps de résidence.

SUMMARY

Microorganisms play a key role in the cycling of organic matter in the marine environment, particularly at specific sites such as the air-water, water-sediment and water-particulates interfaces. The total budget of organic matter can be achieved by analyses of sources, evolution and bacterial activity markers.

The evolution of concepts concerning the utilization of bacterial markers will be discussed, regarding the development of structure elucidation of fatty acids in different series : saturated, unsaturated, branched and hydroxylated.

Budgets of organic matter and bacterial markers (fatty acids, hydrocarbons) are presented :



- i) at the sea-air interface, showing in the surface microlayer an increase of the bacterial activity in the dissolved fraction with respect to the particulate matter
- ii) at the water-sediment-interstitial water interface; the presence of numerous bacterial populations in the sediment is associated with higher enrichments of poorly metabolizable compounds such as polycyclic aromatic hydrocarbons in the interstitial water than in the overlying seawater.
- iii) in the water column, at the water-particulates interface where the bacterial activity appears as very dependent on the particle size and their residence time.

INTRODUCTION

Dans le cycle de la matière organique en milieu marin les micro-organismes jouent un rôle clé, tout particulièrement dans les zones critiques de l'océan : les interfaces eau-air, eau-sédiment et eau-particules en suspension.

Pour saisir l'importance du rôle de la matière organique dans l'environnement marin tant au plan chimique que géochimique, l'océanographe peut aujourd'hui compléter les bilans de carbone dissous et particulaire par des analyses de marqueurs biogéochimiques. Les renseignements apportés sont variés. Ils concernent d'une part l'origine de la matière organique, terrestre, anthropique, marine phytoplanctonique, zooplanctonique ou bactérienne et d'autre part son état de dégradation physique, chimique ou microbiologique.

ÉVOLUTION DU CONCEPT DE MARQUEUR BACTÉRIEN : LES ACIDES GRAS

Les micro-organismes peuvent utiliser la matière organique et par conséquent modifier sa composition de trois façons i) par bioaccumulation de composés difficilement métabolisables, ii) par biodégradation ou métabolisme et iii) par dégradation chimique due aux modifications du milieu par les micro-organismes (déchélation, hydrolyse, oxydo-réduction...).

La tâche du chimiste consistera donc à relier la nature des molécules isolées à l'origine de la matière organique et à l'activité bactérienne à laquelle elle a été soumise. Un certain nombre de molécules ont été utilisées avec succès par les microbiologistes et les géochimistes, telles les hopanoïdes, les cétones à longue chaîne, les acides aminés et les acides gras (Douglas et Maxwell, 1980).

Les acides gras ont été choisis pour illustrer la démarche des chimistes organiciens dans le choix des critères structuraux permettant le repérage de molécules issues spécifiquement de la cellule bactérienne (Perry *et al.*, 1979) ou de son métabolisme. Nous emprunterons quelques exemples à la géochimie sédimentaire qui a beaucoup contribué depuis une quinzaine d'années à la recherche des marqueurs bactériens. La matière organique extraite des sédiments comporte en général peu de marqueurs spécifi-

quement bactériens et à l'état de traces. Il est souvent nécessaire de procéder à une comparaison des distributions des acides gras du sédiment avec celles des bactéries (B) de ce sédiment, cultivées *in vitro* et de certains éléments de la biomasse planctonique (dans notre exemple : diatomées (D) et algues vertes (AV), Volkman *et al.*, 1980).

Cinq critères structuraux peuvent être dégagés permettant d'apprécier l'activité bactérienne :

i) la parité du nombre d'atomes de carbone de la chaîne; le rapport $C_{15}:O + C_{17}:O$ /acides totaux est respectivement 5 et 10 fois plus élevé dans B, 5×10^{-2} que dans D, 9×10^{-3} et AV, 5×10^{-3} . La valeur observée dans le sédiment est voisine de 5×10^{-2} . De plus les acides monoinsaturés à 15 et 17 atomes de carbone ($C_{15}:1$ et $C_{17}:1$) ne sont identifiés que dans la culture bactérienne.

ii) la structure de la chaîne carbonée; à l'exception des acides ramifiés *iso* et *anteiso* en C_{15} , les *iso* et *anteiso* du $C_{14}:O$ au $C_{17}:O$ ne s'observent que dans B. iii) le nombre et la position des liaisons éthyléniques; les acides polyinsaturés sont totalement absents de B, par contre très abondants dans D et AV. Mais du point de vue microbiologique, le rapport $C_{18}:1 \Delta_{11}/C_{18}:1 \Delta_9$ est remarquable. Alors que sa valeur est de 25 dans B, elle n'est que de 1 dans D et 0,22 dans AV. Connaissant la valeur de ce rapport dans le sédiment, il est possible d'en évaluer globalement la participation bactérienne.

iv) la stéréochimie des liaisons éthyléniques; les acides gras mono-insaturés des sédiments récents sont majoritairement de configuration *cis*. Une séparation poussée par chromatographie sur couche mince a permis d'isoler et d'identifier un certain nombre d'acides de $C_{16}:1$ à $C_{18}:1$ *cis* et *trans* (Van Vleet et Quinn, 1976; Volkman *et al.*, 1980). Les acides *trans* constitueraient une classe de marqueurs spécifiquement bactériens. A l'exception du $C_{16}:1 \Delta_3$, ils n'existent ni dans D ni dans AV.

v) la stéréochimie du carbone porteur d'une fonction hydroxyle.

Dans un travail récent Cranwell (1981) utilise la configuration du carbone porteur d'une fonction hydroxyle comme critère d'identification de l'activité bactérienne. On sait que les acides hydroxylés en position 2 et 3 résultent de l' α et β oxydation des acides gras dans les tissus animaux ou végétaux ainsi que dans les bactéries. Les études stéréochimiques de ces processus ont montré que les acides hydroxy-3 de

Tableau 1

Stéréochimie et signification des acides hydroxylés en position 2 et 3 dans le sédiment du Loch Clair (d'après Cranwell, 1981).

Position de la fonction OH	Longueur de la chaîne	Fraction lipidique	Configuration (% R)	Signification biogéochimique
2	C ₂₂ -C ₂₆	libre + liée	82-94	plante supérieure, bien décomposée avant d'atteindre le sédiment
2	C ₁₄ -C ₁₈	libre	3-28	production autochtone, matériel peu évolué
2	C ₁₆ -C ₁₈	liée	40-69	microorganismes et plantes supérieures
3	C ₁₄ -C ₁₆	libre	50	renouvellement rapide des acides gras
3	C ₁₄ -C ₁₈	liée	79-94	parois cellulaires des micro-organismes
3	C ₂₂ -C ₂₆	liée	22-26	β-oxydation des acides gras des lipides liés des plantes supérieures.

configuration (S) sont des intermédiaires de dégradation, alors que les hydroxy-3 de configuration (R) proviennent de la 3 (R) hydroxyacyl-S-ACP formée au cours de la biosynthèse. Par ailleurs, par α oxydation dégradative, les acides hydroxy-2 de configuration (R) et (S) sont formés et subissent une décarboxylation à des vitesses différentes, conduisant à l'accumulation de l'énantiomère (R). La stéréochimie des acides α et β hydroxylés de C₁₄ à C₂₆ extraits d'un sédiment lacustre a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire et séparation des diastéréoisomères des dérivés obtenus avec le chlorure de phénylpropionyl (S). Les acides hydroxylés à plus de 20 atomes de carbone possèdent une configuration (R) caractéristique de l'oxydation métabolique. Dans la gamme de carbone C₁₄-C₁₈, les acides α et β hydroxylés liés aux complexes organo-métalliques ont une configuration (R) plus marquée que les acides libres. Ce phénomène peut être relié à l'origine des acides liés vraisemblablement issus des parois des cellules bactériennes. On peut ainsi déterminer en fonction de la proportion de l'énantiomère (R) sinon l'origine, du moins la signification biochimique de ces répartitions (voir Tableau I).

Etant donné la complexité du milieu naturel, il est évident qu'il n'existe pas de critère absolu de marquage chimique de l'activité bactérienne. Il s'agit là d'une approche. *Il est virtuellement impossible de produire des cultures représentatives des populations naturelles.* On doit donc envisager le développement de ces recherches à la fois vers une multiplication des analyses de cultures *in vitro* en même temps qu'un affinement des méthodes d'investigation permettant d'accéder à une description stéréochimique des structures biosynthétisées ou biodégradées par les bactéries.

Cet examen nous fait entrevoir le champ d'investigation considérable qui s'ouvre afin d'identifier et de quantifier l'activité bactérienne sous ses multiples formes. De nombreux travaux ont été entrepris sur les sédiments. Par contraste, bien que ce phénomène bactérien joue à tous les niveaux de la chimie de l'océan et à ses interfaces, très peu de données existent sur l'océan. Nous présentons quelques applications de ces marqueurs obtenues ces dernières années par notre groupe dans des environnements marins très différents.

APPLICATIONS AU DOMAINE MARIN

1. Interface air-mer

Au cours d'une étude systématique de la chimie de la microcouche de surface des eaux de mer en Méditerranée, il est apparu que cette microcouche est une zone privilégiée d'accumulation de matière organique, en particulier de lipides particuliers, et de formation d'agrégats complexes (Jullien, 1982). Il est connu depuis les travaux de Sieburth *et al.*, (1976) que la microcouche superficielle des eaux de mer est également le siège d'une activité biologique extrêmement importante et une zone de concentration de micro-neuston et de bactéries susceptibles d'être éjectés dans l'atmosphère par le pétillage de la mer (Blanchard, 1978). C'est pourquoi nous avons systématiquement quantifié certains acides gras d'origine bactérienne dans la microcouche pour tous les prélèvements effectués en Méditerranée.

La figure 1 donne pour une dizaine de stations, la trace de l'activité bactérienne dans la microcouche, pour l'eau et les particules en suspension. Les pourcentages d'acides gras à 15 et 17 atomes de carbone par rapport aux acides totaux sont nettement supérieurs dans la fraction dissoute à ceux trouvés dans les particules. Quand on connaît la complexité des réactions inhérentes à cette frontière très active de l'océan et les conséquences géochimiques modifiant les réservoirs de matière présente à l'état dissous ou particulaire, l'activité bactérienne se manifestant dans la fraction dissoute de manière exacerbée est un paramètre d'une grande importance à considérer dans la chimie des échanges océan-atmosphère.

De telles études complétées par des numérations bactériennes et des mesures de stabilité des complexes organo-minéraux doivent apporter dans l'avenir des éléments de réponse pour mieux définir le fonctionnement de l'interface air-mer, en faisant la part des phénomènes physiques, chimiques, photochimiques et microbiologiques.

2. Interface eau-sédiment-eau interstitielle

L'interface eau-sédiment est le siège d'importantes réactions physiques, chimiques et biologiques qui

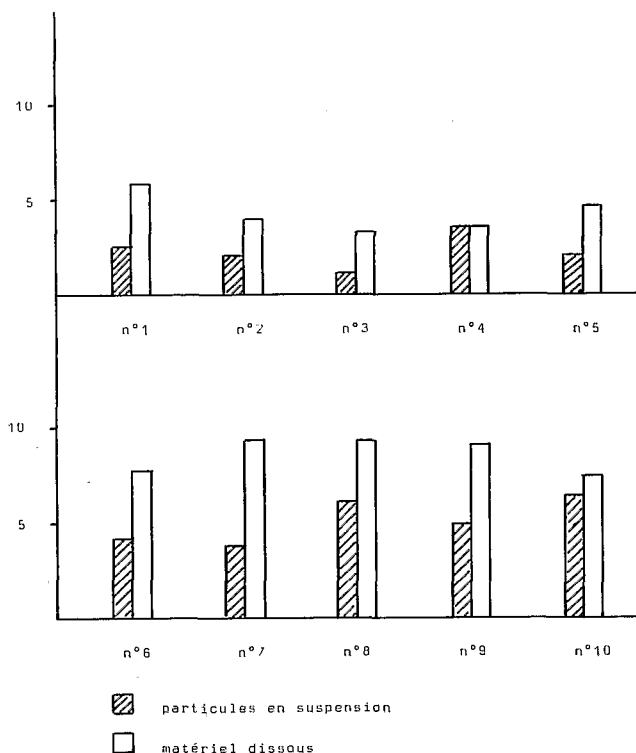


Figure 1

Trace de l'activité bactérienne dans la microcouche de surface des eaux de mer;

Pourcentages des acides gras à 15 et 17 atomes de carbone par rapport au total des acides gras pour des eaux de mer superficielles prélevées en Mer Méditerranée dans le Golfe de Marseille [1, 3] en Mer Adriatique au large de Rovinj [4-5], et en Mer Ligure au large de Villefranche-sur-mer [6, 10] (Jullien, 1982). La séparation a été faite entre les marqueurs bactériens présents à l'état dissous dans l'eau de mer et ceux associés aux particules en suspension.

conditionnent la vie benthique, l'incorporation de la matière organique dans le sédiment et son évolution ultérieure au cours de la diagenèse. L'activité bactérienne est essentielle dans l'incorporation des lipides des eaux de mer au sédiment (Février, 1981).

En Atlantique tropical nord-est, au large de la Mauritanie, on a remarqué que dans les niveaux sédimentaires où de fortes colonies bactériennes actives existent, par exemple pour la station 10 (Tableau II) (Bensoussan *et al.*, 1979), l'eau interstitielle porte l'empreinte de cette activité, mise en évidence par les fortes concentrations en acides ramifiés à 15 et 17 atomes de carbone (Saliot *et al.*, 1980). En considérant le pouvoir de bioaccumulation des bactéries, il est également intéressant de dresser un bilan des substances pouvant être métabolisées à des vitesses différentes. On peut à partir de ces bilans tenter de définir un indice d'activité des micro-organismes. Le tableau II donne les rapports des concentrations dans l'eau interstitielle et dans l'eau sus-jacente au sédiment de divers marqueurs à intérêt métabolique variable (acides gras, hydrocarbures saturés, hydrocarbures aromatiques polycycliques) pour trois stations situées au large de la Mauritanie et pour une station de la plaine du Demerara où le sédiment est stérile (Bensoussan *et al.*, 1978). Pour les sédiments à forte activité bactérienne, les facteurs d'enrichissement en HAP ont des valeurs nettement plus élevées que celles des autres composés, alors que pour des sédiments du large possédant des populations bactériennes inférieures à 1 000 cellules ml⁻¹, les facteurs d'enrichissement sont du même ordre de grandeur. La bioaccumulation des lipides dans l'eau interstitielle est certainement l'un des facteurs les plus importants de l'incorporation de substances peu métabolisables dans les sédiments marins (Hase et Hites, 1976).

3. Interface eau-particules

L'étude de l'évolution du matériel particulaire au sein d'une masse d'eau ou dans une dimension verticale fait intervenir, en tout premier lieu la notion de

Tableau 2

Concentrations de sédiments marins récents, des eaux de mer sus-jacentes et des eaux interstitielles en bactéries et en différentes classes de marqueurs géochimiques pour différentes stations des campagnes Orgon II (Combaz et Pelet, 1978) et Orgon III (Arnould et Pelet, 1979).

1) D'après Bensoussan *et al.*, 1978 et 1979.

2) Microflore hétérotrophe aérobie.

3) Microflore sulfato-réductrice

4) AG = acides gras; HS + I = hydrocarbures saturés et insaturés; HAP = hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Zone géographique	eau de mer			Sédiment		Eau interstitielle	
	Station profondeur (m)	Bactéries (cell. ml ⁻¹) (1)	Marqueurs (µg. l ⁻¹) (4)	Bactéries (cell. ml ⁻¹) (1)	Marqueurs (ppm/séd. sec)	Marqueurs (µg. l ⁻¹) (4)	Facteur d'enrichissement par rapport à l'eau sus-jacente au sédiment
Atlantique nord-ouest Plaine du Demerara (Orgon II)	6,4900	2 400 ⁽²⁾	AG 0,20	0	AG 1,4	AG 0,73	4
		0 ⁽³⁾	HS + I 0,11	0	HS + I 4,3	HS + I 3,18	28
			HAP 0,004		HAP 0,7	HAP 0,15	38
Atlantique nord-est Radiale du Cap Blanc (Orgon III)	14,2030	84	AG 0,46	0	AG 2,2	AG 10,70	23
		0	HS + I 0,85	800	HS + I 3,2	HS + I 13,62	16
			HAP 0,017		HAP 1,2	HAP 0,90	53
	15,2550	220	AG 0,98	3 250	AG 2,9	AG 9,19	9
		0	HS + I 0,13	120	HS + I 5,3	HS + I 5,85	45
			HAP 0,017		HAP 2,8	HAP 16,26	956
	10,3765	210	AG 1,36	1 460 000	AG 3,9	AG 46,98	35
		0	HS + I 1,57	10	HS + I 2,8	HS + I 58,00	37
			HAP 0,016		HAP 0,4	HAP 7,28	455

microenvironnement des particules en suspension et son évolution en fonction de leur taille et leur cheminement (Jannasch, 1978). En effet les bactéries sont responsables de l'essentiel de la dégradation et de la minéralisation des particules.

En fait les relations entre microparticules, colloïdes, agrégats et bactéries sont mal connues. Le problème majeur consiste à différencier la biomasse et l'activité des bactéries liées au matériel particulaire de celles présentes dans les eaux environnantes. Ce problème est afférent aux difficultés de l'échantillonnage mettant en jeu des filtrations qui peuvent libérer des bactéries initialement liées à des agrégats, par éclatement durant la collecte.

L'utilisation de composés organiques tels que les acides gras doit permettre une approche de l'évaluation de l'activité bactérienne sur les particules marines suivant leur taille et leur temps de résidence dans la colonne d'eau. A titre d'illustration, nous exposons quelques données obtenues en Mer Méditerranée au large de Villefranche-sur-mer au cours d'une étude de la sédimentation organique profonde. Il est en effet très important, pour faire le bilan des apports nutritionnels au benthos, de connaître les flux de carbone et de substances non dégradées par les bactéries entre l'océan superficiel et le sédiment. L'étude des marqueurs bactériens (acides en C_{15} et C_{17}) et du rapport entre les acides monoinsaturés et totaux à 18 atomes de carbone a été faite sur divers matériels particuliers de différente granulométrie, collectés depuis la surface jusqu'au sédiment (Fig. 2). Il apparaît ici que l'utilisation conjuguée de divers marqueurs doit être préconisée. Alors que les particules de grande taille ($> 50 \mu\text{m}$) ne se différencient pas des autres particules sur le plan des marqueurs bactériens, elles sont tout à fait différentes par leur richesse en $C_{18} : 1$. Cette distinction peut être le fait d'une activité bactérienne très spécifique; en effet certaines bactéries sont connues pour synthétiser des acides monoinsaturés en grande quantité (Volkman *et al.*, 1980). On ne peut toutefois écarter la possibilité d'une contribution d'une population zooplanctonique profonde. Il est à noter que le matériel fécal ne porte pas de marque importante d'activité bactérienne; ce point a été confirmé par A. Bianchi (comm. pers.), dont les résultats de numérations bactériennes sur les mêmes

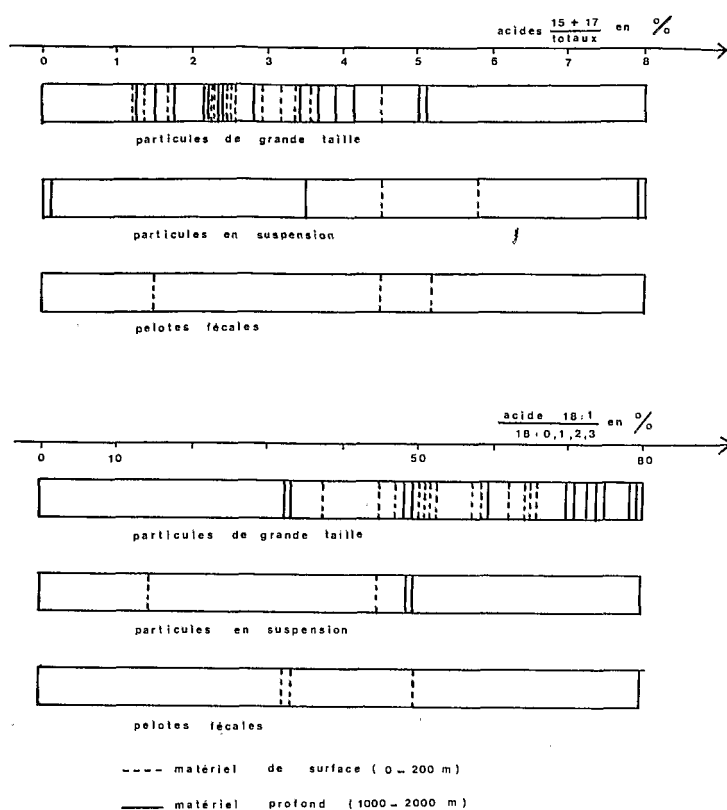


Figure 2

En haut : pourcentages en acides gras à 15 et 17 atomes de carbone par rapport au total des acides gras pour divers matériels en suspension collectés en Mer Méditerranée, au large de Villefranche-sur-mer.

En bas : rapports des quantités d'acides monoinsaturés et totaux à 18 atomes de carbone pour les mêmes particules.

échantillons ne montrent pas d'augmentation des populations sur le matériel fécal.

Ces quelques exemples nous permettent d'appréhender le champ d'investigation considérable qui s'ouvre aux microbiologistes et chimistes marins.

Avec l'évolution des méthodes analytiques modernes, les prochaines années devraient voir le développement de l'application des marqueurs biogéochimiques et en particulier bactériens parallèlement à celui de la microbiologie marine.

BIBLIOGRAPHIE

- Arnould M. et Pelet R.**, 1979. *Géochimie organique des sédiments marins profonds. Orgon III. Mauritanie, Sénégal, Iles du Cap Vert*. Editions du CNRS, Paris, 441 p.
- Bensoussan M., Bianchi A., Bianchi M. et Lizarraga-Partida M.L.**, 1978. Potentialités cataboliques de populations bactériennes isolées des sédiments de la fosse de Cariaco, de la plaine du Demerara et du cône de l'Amazone. In *Géochimie organique des sédiments marins profonds. Orgon II Atlantique Nord-est Brésil*. A. Combaz et R. Pelet ed., Editions du CNRS, Paris, 13-26.
- Bensoussan M., Bianchi A., Bianchi M., Boudabous A., Marty D., Roussos S. et Lizarraga-Partida M.L.**, 1979. Bactériologie des eaux et des sédiments profonds en Atlantique intertropical est. In : *Géochimie organique des sédiments marins profonds. Orgon III. Mauritanie, Sénégal, Iles du Cap Vert*. M. Arnould et R. Pelet ed., Editions du CNRS, Paris, 13-25.
- Blanchard D.C.**, 1978. Jet drop enrichment of bacteria, virus, and dissolved organic material. *Pageoph.*, **116**, 302-308.
- Combaz A. et Pelet R.**, 1978. *Géochimie organique des sédiments marins profonds. Orgon II Atlantique Nord-est Brésil*. Editions du CNRS, Paris, 390 p.
- Cranwell P.A.**, 1981. The stereochemistry of 2- and 3-hydroxy fatty acids in a recent lacustrine sediment. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **45**, 547-552.
- Douglas A.G. et Maxwell J.R.**, 1980. *Advances in organic Geochemistry 1979*. Pergamon Press, Oxford, 784 p.
- Février A.**, 1981. *Les matières organiques à structure complexe des eaux de mer et des sédiments. Interaction avec les traceurs géochimiques*. Thèse d'Etat. Université P. et M. Curie, Paris, 200 p.
- Hase A. et Hites R.A.**, 1976. On the origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments : biosynthesis by anaerobic bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **40**, 1141-1143.
- Jannasch H.W.**, 1978. Microorganisms and their aquatic environment. In : *Environmental biogeochemistry and geomicrobiology*, Vol. 1; *The aquatic environment*. W.E. Krumbein ed., Ann Arbor Science. Ann Arbor, Mich., p. 17-24.
- Jullien D.**, 1982. *L'interface air-mer : composants organiques, budget et processus d'évolution*. Thèse 3^e cycle, Université P. et M. Curie, 120 p.
- Perry G.J., Volkman J.K. et Johns R.B.**, 1979. Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **43**, 1715-1725.
- Saliot A., Tissier M.J. et Boussuge C.**, 1980. Organic geochemistry of the deep ocean-sediment interface and interstitial water. In *Advances in Organic Geochemistry 1979*. A.G. Douglas et J.R. Maxwell eds, Pergamon Press, Oxford, p. 333-341.
- Sieburth J.McN., Willis P.J., Johnson K.M., Burney C.M., Lavoie D.M., Hinga K.R., Caron D.A., French F.W.III, Johnson P.W. et Davis P.G.**, 1976. Dissolved organic matter and heterotrophic microneuston in the surface microlayers of the North Atlantic. *Science*, **194**, 1415-1418.
- Tissier M.J. et Saliot A.**, 1983. Pyrolytic and naturally occurring polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine environment. In *Advances in Organic Geochemistry 1981*, M. Bjorøy et al. eds, John Wiley and Sons Limited, Chichester, 268-278.
- Van Vleet E.S. et Quinn J.G.**, 1976. Characterisation of mono-unsaturated fatty acids from an estuarine sediment. *Nature*, **262**, 126-128.
- Volkman J.K., Johns R.B., Gillan F.T. et Perry G.J.**, 1980. Microbial lipids in an intertidal sediment. I. Fatty acids and hydrocarbons. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **44**, 1133-1143.