

A2.16

DIVERSITÉ DES BACTÉRIES DÉNITRIFIANTES MÉTHYLOTROPHES D'UN BIOFILM ÉLIMINANT LES NITRATES EN EAU SALÉE AU BIODÔME DE MONTRÉAL.

¹Julie Auclair, ²Serge Parent, ¹Richard Villemur

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

²Biodôme de Montréal, Montréal, Québec.

Le Biodôme de Montréal opère un réacteur à lit fluidisé pour éliminer les nitrates d'un aquarium de 3,25 millions de litres d'eau salée représentatif de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent. Un biofilm microbien est responsable de l'activité de dénitrification. Afin de maintenir l'activité de dénitrification, du méthanol est ajouté comme source de carbone. Depuis 2000, le laboratoire du Dr. Villemur étudie la microbiologie du biofilm dénitrifiant qui sert de modèle à l'étude de la dénitrification en eau salée. Les études antérieures réalisées sur le biofilm ont fourni une description des populations bactériennes sans apporter d'indice sur leur fonctionnalité. La technique du *stable isotope probing* a été employée pour identifier les bactéries responsables de l'utilisation du méthanol et de la dénitrification. Le biofilm a été incubé dans de l'eau de mer artificielle en absence d'oxygène mais en présence de nitrate. Du (¹³C)-méthanol a été ajouté comme seule source de carbone. Les microorganismes assimilant le méthanol incorporent dans leur ADN du ¹³C ayant pour effet d'augmenter sa densité par rapport à l'ADN non marqué. L'ADN marqué au ¹³C a été séparé de l'ADN non marqué par ultracentrifugation en gradient de densité. Une librairie du gène de l'ARN ribosomal (ARNr) 16S a été réalisée à partir de l'ADN récupéré dans les fractions de haute densité du gradient. L'analyse de la librairie a démontré que 89% des séquences obtenues étaient affiliées au *Methylophaga sp.* Ces bactéries méthylophages ont été caractérisées comme étant aérobie stricte. Afin de confirmer leur rôle dans le biofilm, les bactéries affiliées à *Methylophaga sp.* ont été isolées en étalant le biofilm sur différents milieux. Deux souches, *IAFJAisoM1* et *IAFJAisoM7*, dont les séquences du gène de l'ARNr 16S sont affiliées à 96% à *M. alcalica* et *M. murata* ont été obtenues. La capacité d'*IAFJAisoM1* et *IAFJAisoM7* à utiliser le nitrate en condition dénitrifiante a été testée. Les résultats ont montré qu'*IAFJAisoM1* réduit le nitrate en nitrite en condition dénitrifiante. Ces travaux démontrent pour la première fois l'implication de bactéries affiliées à *Methylophaga sp.* dans l'utilisation du nitrate en absence d'oxygène.