Document généré le 19 oct. 2024 12:54

Revue des sciences de l'eau
Journal of Water Science

Étude de la biodégradation de l'acide déhydroabiétique par *Bacillus psychrophilus*

Biodegradation of dehydroabietic acid by *Bacillus psychrophilus*

R. Côté et C. Otis

Volume 2, numéro 3, 1989

URI : https://id.erudit.org/iderudit/705033ar
DOI : https://doi.org/10.7202/705033ar

Aller au sommaire du numéro

Éditeur(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN

0992-7158 (imprimé)
1718-8598 (numérique)

Découvrir la revue

Citer cet article

Côté, R. & Otis, C. (1989). Étude de la biodégradation de l'acide déhydroabiétique par *Bacillus psychrophilus*. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, *2*(3), 313–324. https://doi.org/10.7202/705033ar

Résumé de l'article

La rivière du Saguenay (Québec, Canada) traverse une région fortement industrialisée (v.g. alumineries, papeteries) et reçoit d'importantes quantités d'eaux usées. Les teneurs en matière organique dissoute et en fibre de cellulose en suspension provenant de 4 papeteries locales sont relativement élevées dans les eaux de la Rivière et elles sont évaluéesà 29 000 tonnes par année. En plus des eaux usées industrielles, le Saguenay reçoit de grandes quantités d'eaux d'égouts domestiques, ce qui maintient une flore bactérienne relativement abondante et diversifiée dans ses eaux de surface. Parmi la matière organique provenant des papeteries, les acides résiniques abiétique et déhydroabiétique sont très toxiques pour les organismes aquatiques. Cependant, nous avons montré qu'en utilisant une population endogène de *Bacillus psychrophilus*, il était possible de biodégrader l'acide déhydroabiétique (ADA), un acide résinique non chloré. Nous avons constaté qu'après 72 heures de culture, la population bactérienne oxyde plus de 92 % de l'ADA et après 96 heures, la biodégradation est complète. La cinétique de la biodégradation de l'ADA par *B. psychrophilus* a été étudiée en mesurant les fluctuations des teneurs en ATP et par chromatographie en phase gazeuse. Nous pensons que cette souche bactérienne peut jouer un rôle important dans la dépollution des eaux usées des papeteries du Saguenay.

Tous droits réservés © Revue des sciences de l'eau, 1989

Ce document est protégé par la loi sur le droit d'auteur. L'utilisation des services d'Érudit (y compris la reproduction) est assujettie à sa politique d'utilisation que vous pouvez consulter en ligne.

https://apropos.erudit.org/fr/usagers/politique-dutilisation/

Cet article est diffusé et préservé par Érudit.

Érudit est un consortium interuniversitaire sans but lucratif composé de l'Université de Montréal, l'Université Laval et l'Université du Québec à Montréal. Il a pour mission la promotion et la valorisation de la recherche.

https://www.erudit.org/fr/

REVUE DES SCIENCES DE L'EAU, 2 (1989) 313-324

Étude de la biodégradation de l'acide déhydroabiétique par *Bacillus psychrophilus*

Biodegradation of dehydroabietic acid by *Bacillus psychrophilus*

R. CÔTÉ, C. OTIS

RÉSUMÉ

La rivière du Saguenay (Québec, Canada) traverse une région fortement industrialisée (v.g. alumineries, papeteries) et reçoit d'importantes quantités d'eaux usées. Les teneurs en matière organique dissoute et en fibre de cellulose en suspension provenant de 4 papeteries locales sont relativement élevées dans les eaux de la Rivière et elles sont évaluées à 29 000 tonnes par année. En plus des eaux usées industrielles, le Saguenay reçoit de grandes quantités d'eaux d'égouts domestiques, ce qui maintient une flore bactérienne relativement abondante et diversifiée dans ses eaux de surface. Parmi la matière organique provenant des papeteries, les acides résiniques abiétique et déhydroabiétique sont très toxiques pour les organismes aquatiques. Cependant, nous avons montré qu'en utilisant une population endogène de *Bacillus psychrophilus*, il était possible de biodégrader l'acide déhydroabiétique (ADA), un acide résinique non chloré. Nous avons constaté qu'après 72 heures de culture, la population bactérienne oxyde plus de 92 % de l'ADA et après 96 heures, la biodégradation est complète. La cinétique de la biodégradation de l'ADA par *B. psychrophilus* a été étudiée en mesurant les fluctuations des teneurs en ATP et par chromatographie en phase gazeuse. Nous pensons que cette souche bactérienne peut jouer un rôle important dans la dépollution des eaux usées des papeteries du Saguenay.

Mots clés : Bacillus psychrophilus, *acide déhydroabiétique, biodégradation, rivière Saguenay.*

Département des sciences fondamentales, Université du Québec à Chicoutimi, 555 Boulevard de l'Université, Chicoutimi (Québec) G7H 2B1

SUMMARY

The Saguenay River (Quebec, Canada) is situated in an industrialized area (aluminium smelters, papers mills) and receives a great amount of industrial wastewaters. Concentrations of dissolved organic matter and suspended cellulose fibers from the 4 local paper mills are relatively high in the waters of the Saguenay River and are evaluated at 29 000 tons per year. Moreover, the Saguenay River receives urban wastewaters and the bacterial populations in the surface waters are abundant and diversified. Among the organic matter from the paper mills, the abietic and dehydroabietic resin acids are very toxic for aquatic organisms. Yet, we found that, with endogenous populations of *Bacillus psychrophilus* in the decantation-basin, it was possible to oxidize the dehydroabietic acid (DHA), a non chlorinated resinic acid. It was found that after 72 hours, more than 92 % of this pollutant was oxidized. After a period of 96 hours, biodegradation was complete. The kinetics of this reaction were studied by measuring the fluctuations of the rates of ATP and by gaz chromatography. We think that this bacterial species is thus probably an important microorganism controlling the toxicity of the wastewaters from the paper mills of the Saguenay.

Key-words : Bacillus psychrophilus, *dehydroabietic acid, biodegradation, Saguenay River.*

INTRODUCTION

Le Saguenay est un milieu estuarien situé au coeur d'une région fortement industrialisée (v.g. alumineries, papeteries) et reçoit d'importantes quantités d'eaux usées. Les concentrations en ions métalliques et en matériel ligneux (de nature dissoute et particulaire) y sont relativement élevées dans les eaux superficielles (LORING, 1975, 1976 ; POCKLINGTON, 1976 ; SMITH et LORING, 1981 ; CÔTE, 1981 ; THOMPSON et CÔTE, 1985). De plus, le Saguenay draine les eaux des lacs Saint-Jean et Kénogami, deux importants centres de villégiature, et il constitue le milieu récepteur d'eaux usées domestiques provenant d'un bassin de population de plus de 160 000 habitants. Les eaux usées de plusieurs exploitations agricoles (v.g. porcheries, cultures intensives de pomme de terre) contribuent également à modifier plus ou moins directement la qualité biologique de cet écosystème aquatique considéré comme étant le principal affluent de l'estuaire du Saint-Laurent (D'ANGLEJAN, 1970).

La pollution provenant des quatre papeteries du Saguenay est estimée à 29 000 tonnes de matière organique par an selon ENVIRONNEMENT CANADA (1982). Parmi cette matière organique que reçoit le Saguenay, certains composés comme les acides résiniques abiétique et déhydroabiétique sont considérés comme étant très toxiques pour les organismes aquatiques (HAGMAN, 1936 ; KAISER, 1976 ; COUILLARD et TRUDEL, 1981). Ces deux acides sont rejetés dans le milieu aquatique en quantités importantes

puisqu'ils sont évalués respectivement à 482 et 313 g par tonne de pulpe de bois produite. Pour chacun de ces acides, la toxicité s'avère relativement forte ; les études de LEACH *et al.* (1976) et de WHITE et FLOOD (1977) ont démontré que les LC50 chez la truite arc-en-ciel, pour une période de 96 heures, sont respectivement de 0,7 et 1,1 $mg.L^{-1}$.

Cependant, il a été démontré par HEMINGWAY et GRAVES (1973) que certaines souches bactériennes comme *Pseudomonas resinovarans* et *Flavobacterium resinovorum*, de même que plusieurs espèces du genre *Bacillus* telles que *B. lentus*, *B. pantotheuticus*, *B. pulvifaciens*, *B. pumilus*, *B. polymixa*, *B. subtilis*, peuvent oxyder certains composés toxiques tels que les acides résiniques. D'autres études (BIELLMAN *et al.*, 1973 ; KUTNEY *et al.*, 1981, 1982, 1983) ont révélé que les bactéries du genre *Alcaligenes* et le mycète *Mortierella isabellina* peuvent être utilisés dans des expériences de biodégradation, et il semble que les produits de dégradation ne soient plus ou peu toxiques pour les organismes aquatiques. La présente étude veut vérifier si certaines populations bactériennes retrouvées dans le clarificateur, et celles endogènes du Saguenay, sont capables de biodégrader l'acide déhydroabiétique (ADA), un des acides résiniques retrouvés dans le milieu.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

A) Isolement des bactéries

Les données de la présente étude proviennent de deux stations (SAG 1 et SAG 2) situées dans la partie amont du Saguenay (fig. 1) à proximité du tuyau de rejet des papeteries. Ces stations furent échantillonnées à trois reprises en surface et à 2 m de profondeur durant la période de mai à août 1983. Tous les échantillons d'eau furent prélevés au moyen de bouteilles de verre de 1 L préalablement stérilisées. Parallèlement à ces prélèvements, nous avons analysé la flore microbienne dans les clarificateurs des papeteries.

A partir d'aliquotes de 1 ml (prélevées dans chaque échantillon d'eau de même que pour les échantillons prélevés dans les clarificateurs), nous avons effectué des dilutions 10^{-3} dans une solution saline de 0,85 % et inoculé trois surfaces de gélose nutritive pour chacun de ces échantillons (DIFCO LABORATOIRIES, 1977). Afin de permettre le développement d'une plus grande diversité bactérienne, chacune de ces surfaces gélosées était incubée aux températures respectives de 25°, 35° et 45° C. Après une période d'incubation de 48 heures, chaque colonie distincte était isolée et cultivée dans des bouillons nutritifs. Après 24 heures à l'étuve, ces bouillons étaient inoculés sur différentes géloses sélectives et incubées pendant 48 heures à des températures de 25°, 35° et 45° C (APHA *et al.*, 1965). De plus, la détermination du biotype bactérien a été réalisée grâce à l'observation microscopique et au système d'identification API-20E. Les bactéries identifiées comme faisant partie du genre *Bacillus* furent isolées sur une gélose à l'amidon et incubées à diverses températures. La composition des géloses était la suivante : peptone : 0,5 % - extrait de levure : 0,5 % - amidon soluble : 0,3 % - gélose 1,5 %.

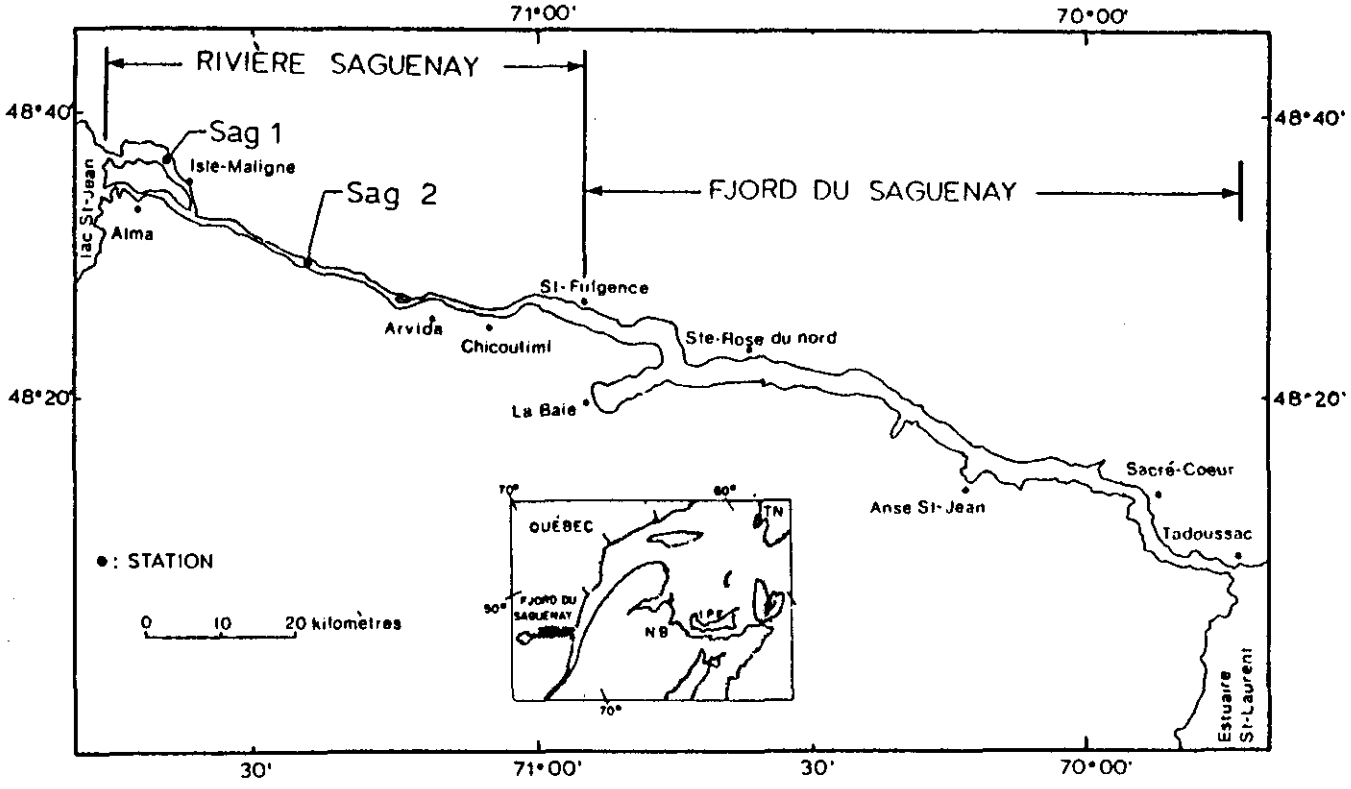

Figure 1.- Système hydrographique du Saguenay. La cartouche représente l'ensemble de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent.

Figure 1.- Map of the Saguenay Fjord with sampling stations location and the Gulf of Saint.Lawrence.

B) Milieu de culture

L'étude de la biodégradation de l'ADA a été poursuivie dans des erlenmeyers de 1 L contenant 600 mL d'une solution synthétique de milieu Dubos (DUBOS, 1928) dont la composition chimique est :

- 0,5 $g.L^{-1}$ de $NaNO_3$
- 1,0 $g.L^{-1}$ de K_2HPO_4
- 0,2 $g.L^{-1}$ de $MgSO_4$
- 0,01 $g.L^{-1}$ de $FeSO_4.7H_2O$
- 0,06 $g.L^{-1}$ de glucose
- 0,06 $g.L^{-1}$ de xylose
- 0,006 $g.L^{-1}$ d'acide acétique

Dans chaque récipient, nous avons également ajouté une solution de 1 $mg.L^{-1}$ d'ADA préparée à partir d'une solution-mère de 1,0 $g.L^{-1}$ (fournies par le Laboratoire B.C. Research de Vancouver). Pour maintenir l'ADA en solution, nous avons ajouté quelques gouttes de Tween 60.

Nous avons testé l'efficacité de biodégradation sur chaque type isolé à partir de l'eau du Saguenay et du clarificateur, en omettant les souches identiques à celles isolées et utilisées par HEMINGWAY et GRAVES (1973). Chaque expérience comportait 4 erlenmeyers : 2 erlenmeyers contenaient l'ADA et 0,2 mL d'une culture bactérienne tandis que les 2 autres servaient de témoins (dont l'un ne contenait que le polluant et l'autre, que la culture bactérienne). Le pH de chacun des erlemeyers était maintenu à 7,8 ± 0,01 et la température expérimentale était de 22° ± 0,5° C (température moyenne des eaux du clarificateur). La biodégradation de l'ADA s'est poursuivie pendant 96 heures.

C) Extraction et analyse de l'ADA

Le mode d'extraction et d'analyse de l'ADA est conforme aux techniques décrites par LEACH et THAKORE (1974 *a,b*) où le mélange diethyléther méthanol (10:1) était utilisé comme éluant. Dans chacun des 4 erlenmeyers, des aliquotes de 10 mL étaient prélevées, traitées avec une solution de NaCl saturée (1,4 mL) et filtrées sur une colonne de verre de résine Amberlite XAD-2 (10 mL). L'extrait diéthyléthérméthanol-ADA était par la suite asséché avec $MgSO_4$. Au moyen d'un fin jet d'azote de grande pureté, l'ADA était séparé de l'éther et du méthanol et ensuite méthylé par la méthode au diazométhane (FALES *et al.*, 1973) et analysé par chromatographie en phase gazeuse. Les conditions d'analyse en chromatographie sont énumérées au tableau 1.

D) La croissance bactérienne

La croissance bactérienne de chaque erlenmeyer était évaluée à partir de la concentration de l'ATP mesurée au moyen d'un luminomètre LKB Wallac 1250, selon la méthodologie décrite par JAKUBCZAK et LECLERC (1980), qui proposaient l'utilisation du diméthylsulfoxide (DMSO) dans la méthodologie d'extraction.

Tableau 1.- Caractéristiques techniques pour l'analyse des échantillons en chromatographie en phase gazeuse.

Table 1.- Technical characteristics for analysis of samples by gas-chromatography.

Chromatographe	Hewlett-Packard 5700A
Détecteur	FID
Colonne	Colonne en acier inoxydable (1,8 m x 0,32 cm), contenant 10 % de silar 10C, maille 60-80 Chromosorb W HP
Température injecteur	300° C
Température détecteur	300° C
Prog. température	Départ à 150° C pendant 4 min en augmentant ensuite de 2°C.min^{-1} jusqu'à 240° C
Volume d'injection	2 µL
Standard interne utilisé	Acide heptadécanoique (0,25-1 mg)
% d'erreur calculé	2,2 %
Gaz porteur	Hélium
Débit	38 mL.min^{-1}
Atténuation	4

RÉSULTATS ET DISCUSSION

A) Diversité bactérienne

L'analyse du tableau 2 révèle que la diversité bactérienne est relativement forte dans les eaux du Saguenay et dans les eaux du clarificateur de la papeterie. Un nombre total de 21 souches bactériennes ont été isolées, appartenant à 12 genres différents. Les deux familles bactériennes les mieux représentées sont les Entereobacteriaceae et les Bacilliaceae avec respectivement 5 et 9 souches. Les Enterobacteriaceae se retrouvent surtout dans les eaux du Saguenay - en raison des importants rejets d'égouts domestiques - tandis que les Bacilliaceae sont surtout présentes dans les eaux du clarificateur. Dans les eaux du Saquenay, la dominance est assurée par *Klebsiella pneumonia* et *Aeromonas hydrophila proteolitica*, tandis que dans les eaux du clarificateur, plus de la moitié (soit 53 %) des bactéries appartiennent au genre *Bacillus* et l'espèce *B. psychrophilus* y est dominante tout au long de la saison de l'échantillonage.

Tableau 2.- Listes des espèces bactériennes retrouvées dans les eaux superficielles du Saguenay et dans les eaux du clarificateur des papeteries entre mai et août 1983.

Table 2.- List of species in the surface waters of the Saguenay River and in the decantation-basin of the paper mills from May to August 1983.

Espèce bactérienne	Famille	Eaux du Saguenay	Eaux du Clarificateur
Klebsiella pneumonia	E	X	X
Enterobacter cloaceae	E	X	
Escherichia coli	E	X	X
Citrobacter freundii	E	X	X
Erwinia herbicola	E	X	
Aeromonas hydrophila proteolytica	V	X	X
Bacillus polymyxa	B	X	X
Bacillus macerans	B		X
Bacillus sphaericus	B		X
Bacillus licheniformis	B		X
Bacillus pasteurii	B		X
Bacillus psychrophilus	B		X
Bacillus circulans	B		X
Bacillus isolitus	B		X
Bacillus acidocaldanisa	B		X
Acinetobacter calcoaceticus	N	X	
Chromobaterium violaceum		X	X
Pseudomonas putida	P	X	
Pseudomonas fluorescens	P	X	X
Pasteurella multocida		X	
Flavobacterium adoratum		X	

E = Enterobacteria

V = Vibrionaceae

B = Bacilliaceae

N = Neisseriaceae

P = Pseudomonadaceae

A l'instar de CAPLENAS *et al.* (1981), nous avons remarqué qu'en dépit de conditions physico-chimiques drastiques dans les eaux de clarificateur, la densité des coliformes était relativement élevée. L'eau du clarificateur est un substrat riche en matières organiques (acides résiniques, divers polysaccharides, certains alcools comme le méthanol) et nous avons constaté qu'elle maintient une flore bactérienne plus dense et plus variée que celle des eaux du Saguenay. Isolée à partir d'échantillons du clarificateur, la souche *Bacillus psychrophilus* s'est avérée, après expérimentation, capable d'utiliser l'ADA comme substrat dégradable.

Dans une étude préliminaire effectuée durant l'été 1978 (R. CÔTE, données non publiées), nous avions constaté que la densité bactérienne totale était importante dans les eaux du Saguenay. Le nombre d'unité formatrice de colonie (UFC) variait entre 264 et 670 par mL avec des valeurs maximales en août. Nous avons observé une grande polyvalence de métabolisme bactérien ; les 19 souches étudiées se caractérisaient par 8 biotypes bactériens. Les coliformes totaux représentaient 14 % de cette population bactérienne en juin, tandis qu'en juillet et août, les pourcentages étaient *Klebsiella pneumoniae* (43 %), *Aeromonas hydrophila* (10 %), *Acinetobacter calcoaceticus* (80 %) et *Enterobacter cloaceae* (8 %). Les coliformes participaient donc faiblement à la flore microbienne du Saguenay.

B) Biodégradation de l'acide déhydroabiétique (ADA)

Parmi toutes les souches bactériennes que nous avons isolées, il y avait seulement *Bacillus psychrophilus* qui démontra un pouvoir de biodégradation de l'ADA. L'analyse de la figure 2 nous révèle que la biodégradation de l'ADA par cette bactérie est relativement rapide durant les 72 premières heures, puisque la concentration du polluant diminue de plus de 92 % ; après 96 heures, la biodégradation semble complète. L'utilisation de cet acide résinique par la bactérie semble donc être efficace. D'ailleurs, nos résultats sont comparables à ceux de certains chercheurs, notamment BRANNON *et al.* (1968) et KUTNEY *et al.* (1981), qui constatèrent que la biodégradation complète de l'ADA pouvait s'effectuer dans un laps de temps variant entre 24 et 96 heures, dépendamment de la bactérie utilisée. Dans le ballon témoin, la concentration de l'ADA demeure assez stable.

En comparant les fluctuations temporelles de la concentration de l'ATP dans des milieux de culture avec et sans ADA (fig. 3), nous remarquons que la bactérie *B. psychrophilus* semble être plutôt polyvalente car les deux courbes de croissance présentent une très grande analogie. Dans les deux cas, la phase de latence dure environ 24 heures et la phase exponentielle s'étale entre 24 et 96 heures. Toutefois, à partir de la 36è heure, la présence de l'ADA dans le milieu de culture favorise un peu la croissance de la souche bactérienne puisque les concentrations de l'ATP sont toujours légèrement plus élevées que celles du milieu sans ADA. Puisque l'ADA est complètement dégradé comme nous l'avons observé précédemment (fig. 2), cet acide résinique ne représente probablement pas l'unique source de carbone utilisée par la bactérie. Cet acide constituerait plutôt une source secondaire pouvant à la rigueur être co-métabolisé en même temps que certains saccharides comme le xylose et le glucose qui sont généralement présents dans les eaux du clarificateur.

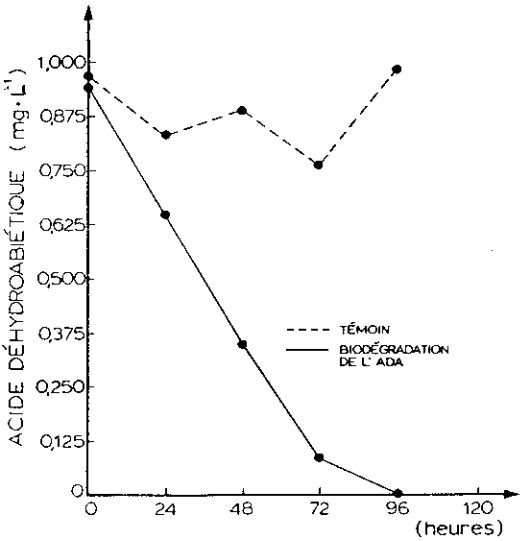

Figure 2.- Biodégradation de l'acide déhydroabiétique (ADA) par *Bacillus psychrophilus*.

Figure 2.- Biodegradation of dehydroabietic acid (DHA) by Bacillus psychrophilus.

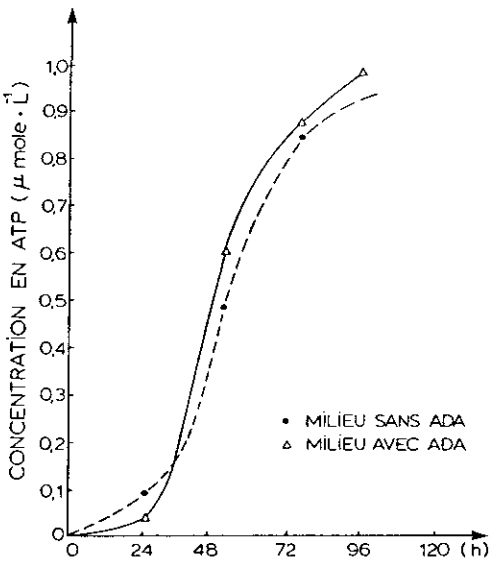

Figure 3.- Courbe de croissance de *Bacillus psychrophilus* dans un milieu avec et sans acide déhydroabiétique (ADA).

Figure 3.- Growth of Bacillus psychrophilus *with and without DHA (dehydroabietic acid).*

L'obtention d'une si grande concordance entre les deux courbes de croissance (avec et sans ADA dans le milieu de culture) pourrait nous amener à nous interroger sur l'efficacité d'une telle bactérie à biodégrader l'ADA. Cependant l'analyse des divers chromatogrammes illustrés à la figure 4 nous révèle toutefois de façon très évidente la diminution progressive de l'ADA dans le milieu. La disparition du pic de l'ADA est complète après 72 heures et elle est suivie par l'apparition de nouveaux pics qui deviennent de plus en plus accentués à partir de 96 heures.

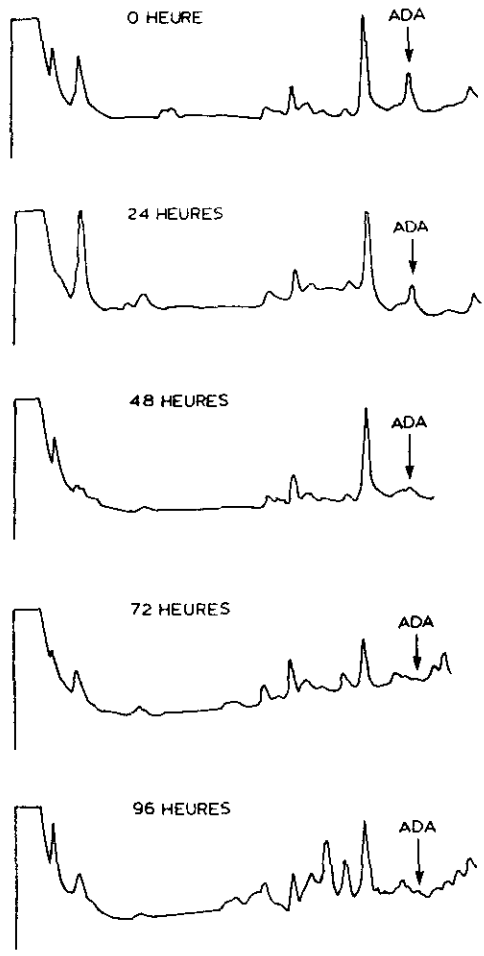

Figure 4.- Chromatogrammes illustrant la dégradation bactérienne de l'acide déhydroabiétique par *Bacillus psychrophilus*.

Figure 4.- Chromatograms showing the biodegradation of the dehydroabietic acid (DHA) by Bacillus psychrophilus.

CONCLUSION

Nous pouvons affirmer qu'une population monospécifique de *Bacillus psychrophilus* est capable de dégrader l'ADA, polluant rejeté par les papeteries et qui est néfaste pour les organismes aquatiques. Cependant, en examinant les courbes de croissance obtenue, il semble que l'ADA ne peut être utilisé comme unique source de carbone par *B. psychrophilus*. Dans un milieu comme le clarificateur, l'ADA se retrouve en contact de toute une série de composés à forte teneur en carbone organique et facilement métabolisables comme saccharides et la croissance bactérienne semble être favorisée et la biodégradation de l'ADA, effectuée avec une plus grande efficacité. Nous espérons, grâce aux travaux en cours menés par des collègues, être bientôt en mesure de préciser si la diminution de l'ADA est totalement due à la biodégradation bactérienne ou si une adsorption de cet acide par certains composés organiques ne serait pas possible. De tels résultats s'avèreront d'une grande importance pour la qualité des eaux du fjord du Saguenay puisque cet estuaire reçoit d'énormes quantités d'eaux usées provenant des papeteries locales.

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche fut réalisé grâce à l'appui financier du Programme d'Aide Institutionnelle à la Recherche (PAIR) et de la Fondation de l'Université du Québec à Chicoutimi. Les auteurs remercient également Monsieur Pierre Boivin pour l'aide technique apportée lors de l'échantillonnage.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

APHA, AWWA, WPCF (1965). *Standard methods for the examination of water, sewage and industrial wastes.* American Public Health Association, 12th ed. New York, 592 p.

BIELLMANN J.F., BRANLANT G., GERO-ROBERT M., POIRET M. (1973). Dégradation bactérienne de l'acide déhydroabiétique par un *Pseudomonas* et une *Alcaligenes*. *Tetrahedron*, 29: 1237-1241.

BRANNON D.R., BOAZ H., WILEY B.J., MABE J., HORTON D.R. (1968). Hydroxylation of some dehydroabietanes with *Corticium sasakii*. *J. Org. Chem.*, 33: 4462-4466.

CAPLENAS N.R., KANAREK M.S., DUFOUR A.P. (1981). Source and extent of *Klebsellia pneumonia* in the paper industry. *Applied and Environmental Microbiology*, 42: 770-785.

CÔTÉ R. (1981). Variations saisonnières de la production primaire dans le fjord du Saguenay. *Hydrobiologia*, 83: 3-10.

COUILLARD D., TRUDEL R., (A981). Influence des rejets d'usines de pâtes et papier sue les macroinvertébrés, les bactéries et l'eutrophisation d'une rivière. *Water Research*, 15: 1331-1342.

D'ANGLEJAN B.I. (1970). Studies on particulate suspended matter in the Gulf of St Lawrence. MS Rep. Mar. Sci. Centre McGill Univ. 17, 51 p.

DIFCO LABORATORIES (1977). *Difco manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures.* 9th edition, 350 p.

DUBOS R.J. (1928). The decomposition of cellulose by aerobic bacteria. *J. Bact.*, 15: 233-234.

ENVIRONNEMENT CANADA (1982). Toxicité de l'effluent des usines de pâtes au sulfite partiquant la récupération et le traitement biologique. Rapport EPS 3-WP-79-9F, Ottawa, Ontario, 42 p.

FALES H.M., JAOUNI T.M., BABASHAK J.F. (1973). Simple device for preparing etheral diazomethane without resorting to codistillation. *Analytical Chemistry*, 45: 2302-2303.

HAGMAN N. (1936). The markets in 1935, wood pulp market, chemical wood pulp. *The Finish Paper and Timber Journal*, 18: 1-49.

HEMINGWAY R.W., GRAVES H. (1973). Biodegradation of resin acid sodium salts. *Tappi*, 56: 189-192.

JAKUBCZAK E., LECLERC H. (1980). Mesure de l'ATP bactérien par bioluminescence : Etude critique des méthodes d'extraction. *Ann. Biol. Clin.*, 38: 297-304.

KAISER K.L.E. (1976). Organic contaminant residues in fishes from Nipigon Bay, Lake Superior. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 850-855.

KUTNEY J.P., SINGH M., HEWITT G., SALISBURY P.J., WORTH B.E., SERVIZI J.A., MARTENS D.W., GORDON R.W. (1981). Studies related to biological detoxification of kraft pulp mill effluent. I - The biodegradation of dehydroabietic acid with *Mortierella isabellina*. *Helvetica Chemica Acta*, 65: 661-669.

KUTNEY J.P., DIMITRIADIS E., HEWITT G.M., SINGH M., WORTH B.R. (1982). Studies related to biological detoxification of kraft pulp effluent. III - The biodegradation of abietic acid with *Mortierella isabellina*. *Helvetica Chemica Acta*, 65: 661-669.

KUTNEY J.P., DIMITRIADIS E., HEWITT G.M., SINGH M., WORTH B.R. (1983). Studies related to biological detoxification of kraft pulp mill effluent. IV - The biodegradation of 12,14-dichlorodehydroabietic acid with *Mortierella isabellina*. *Helvetica Chemica Acta*, 66: 921-928.

LEACH J.M., THAKORE A.M., (1974*a*). Identification and treatment of the toxic materials in pulp and paper woodroom effluents. CPAR Rep. n° 148-2. Can. Foresty Service, Ottawa, Ontario. 43 p.

LEACH J.M., THAKORE A.M. (1974*b*). Isolation of the constituents of kraft pulp mill effluents. CPAR Rep. n° 11-4. Can. Forestry Service, Ottawa, Ontario. 46 p.

LEACH J.M., MUELLER J.C., WALDEN C.C. (1976). Biodegradability of various toxic compounds in pulp and paper effluents. CPAR Rep. 40B-1. Can. Forestry Service. Ottawa, Ontario. 45 p.

LORING D.H. (1975) Mercury in the sediments of the Gulf of Saint.Lawrence. *Can. J. Earth Sci.*, 12: 1219-1237.

LORING D.H. (1976). The distribution and partition of zinc, copper and lead in the sediments of the Saguenay fjord. *Can. J. Earth Sci.*, 13: 960-971.

POCKLINGTON R. (1976). Terrigenous organic matter in surface sediments from the Gulf Saint.Lawrence. *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 93-97

SMITH J.N., LORING D.H. (1981). Geochronology for mercury pollution in the sediment of the Saguenay Fjord, Quebec. *Envir. Sci. Technol.*, 15: 944-951.

THOMPSON P.A., CÔTE R. (1985). Influence de la spéciation du cuivre sur les populations phytoplanctoniques naturelles de la rivière du Saguenay. *Int. Revue ges. Hydrobiol.*, 70: 711-731.

WHITTLE D.M., FLOOD K.W. (1977). Assessment of the acute toxicity, growth impairment, and flesh tainting potential of a Bleached Kraft mill Effluent on Rainbow Trout. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 869-878.