

# LE BACTÉRIOPLANCTON DU LÉMAN

Campagne 1998

PAR

Dominique FONTVIELLE <sup>1</sup>, Sylvie VIBOUD <sup>1</sup> et Xavier GAYTE <sup>2</sup>

<sup>1</sup> CARTEL, UNIVERSITÉ DE SAVOIE, F - 73376 LE BOURGET DU LAC Cedex

<sup>2</sup> PARC NATUREL RÉGIONAL DU MASSIF DES BAUGES, F - 73630 LE CHÂTELARD

## RÉSUMÉ

*L'analyse du bactérioplancton effectuée en 1998 vient prolonger, après 7 ans d'interruption, les cinq années d'auscultation du bactérioplancton du Léman réalisées de 1986 à 1990.*

*Deux analyses complémentaires, celle du carbone organique dissous biodégradable et celle des bactéries métaboliquement actives, sont venues s'ajouter aux dénombrements des bactéries et à la mesure de la production bactérienne.*

*Les résultats montrent qu'en moyenne, 27 % du carbone organique dissous est biodégradable à court terme (15 jours) et qu'une petite fraction de l'ensemble des populations bactériennes (4 %) est métaboliquement active au sens de la méthode basée sur la réduction du CTC. La concentration moyenne des bactéries par strate est un peu supérieure à ce qu'elle était en 1990 alors que l'importance de la production bactérienne relativement à la production phytoplanctonique décroît (de 28 % à 23 % environ).*

## 1. INTRODUCTION

Ce rapport se place dans la continuité d'une série de cinq campagnes annuelles de suivi du bactérioplancton du Léman au point SHL2, effectuées de 1986 à 1990 par DUFOR et ses collaborateurs (DUFOR et al., 1991). Les progrès réalisés depuis, avec le dénombrement des bactéries par analyse d'image, ont montré le caractère très approximatif de l'évaluation directe par l'opérateur des classes de taille des bactéries. Nous avons donc renoncé à faire cette évaluation dans l'attente de l'acquisition d'un matériel plus performant qui devrait être disponible pour la campagne 1999. Deux analyses complémentaires, celle du carbone organique dissous biodégradable (CODB) et celle des bactéries métaboliquement actives (BMA) sont venues s'ajouter aux dénombrements des bactéries et à la mesure de la production bactérienne. Ces deux mesures doivent constituer une aide à l'interprétation du système triangulaire formé par les nutriments, la biomasse des bactéries et leur activité métabolique.

Les caractéristiques des communautés bactériennes seront rapprochées des valeurs de la biomasse du phytoplancton et de la production primaire eucaryotique en raison des liens qui s'établissent classiquement entre algues planctoniques et bactéries hétérotrophes.

## 2. MÉTHODES

Les prélèvements sont effectués simultanément à ceux destinés aux analyses chimiques (18 profondeurs, 21 campagnes par an). Quatre mélanges sont effectués en tenant compte de l'importance relative des différentes strates dans le volume total du grand lac : 0 à 5 m (épilimnion), 5 à 20 m (métalimnion supérieur), 20 à 50 m (métalimnion inférieur) et 50 à 305 m (hypolimnion).

Le dénombrement des bactéries est effectué sur un sous-échantillon immédiatement fixé au formol (concentration finale 5 %) et ultérieurement filtré puis coloré par un fluorochrome (DAPI, méthode de PORTER et FEIG, 1980). Les comptages ne tiennent pas en compte cette année des classes de volume des bactéries si bien que l'évaluation de la biomasse globale du bactérioplancton n'a pas été calculée.

La production bactérienne est mesurée par la méthode de l'incorporation de la thymidine tritiée dans les acides nucléiques des bactéries (FUHRMAN et AZAM, 1982). Le facteur de conversion utilisé est de  $3,86 \cdot 10^{18}$  cellules par mole de thymidine incorporée. Le choix de cette valeur a essentiellement été dicté par le souci de placer les résultats dans la continuité de ceux acquis par DUFOUR & al. de 1986 à 1990.

La concentration en bactéries métaboliquement actives (BMA) est calculée à partir de dénombrements au microscope en épifluorescence après incubation des cellules en présence de 5'cyano 2,3 di-4 tolyl tetrazolium chloride ou CTC (méthode de RODRIGUEZ et al., 1992). Le CTC est un accepteur d'électrons qui entre en compétition avec les accepteurs naturels de la voie finale commune. Le CTC réduit (CTC-formazan) émet une fluorescence rouge sous l'excitation de la source UV du microscope. Le rapport des concentrations des bactéries "CTC-actives" à celui des bactéries dénombrées après coloration au DAPI est une indication du pourcentage de bactéries actives.

Au plan des nutriments organiques sur lesquels est susceptible de s'appuyer l'activité bactérienne, deux mesures complémentaires sont réalisées, celle du carbone organique dissous (COD, oxydation par l'association persulfate de sodium-UV et détection infrarouge), celle du carbone organique dissous biodégradable (COBD, méthode de SERVAIS et al., 1987) et par déduction, celle du carbone organique dissous réfractaire (CODR).

### 3. RÉSULTATS

#### 3.1 Distribution verticale des bactéries

La figure 1 montre que les plus grandes concentrations de bactéries le long des profils de stratification se situent, selon la date, dans l'épilimnion ou dans la partie haute du métalimnion. Deux épisodes d'accentuation de la stratification (avec des valeurs supérieures à  $3 \cdot 10^6$  cellules/ml) peuvent être distingués au cours du cycle annuel : celui de la période du 22.06 au 06.07 et celui de la période du 07.09 au 07.12. Ils font manifestement suite à des chutes brutales de la biomasse phytoplanctonique qui suivent elles-mêmes les pics de biomasse relevés au cours de l'année 1998 (DRUART et al., 1999).

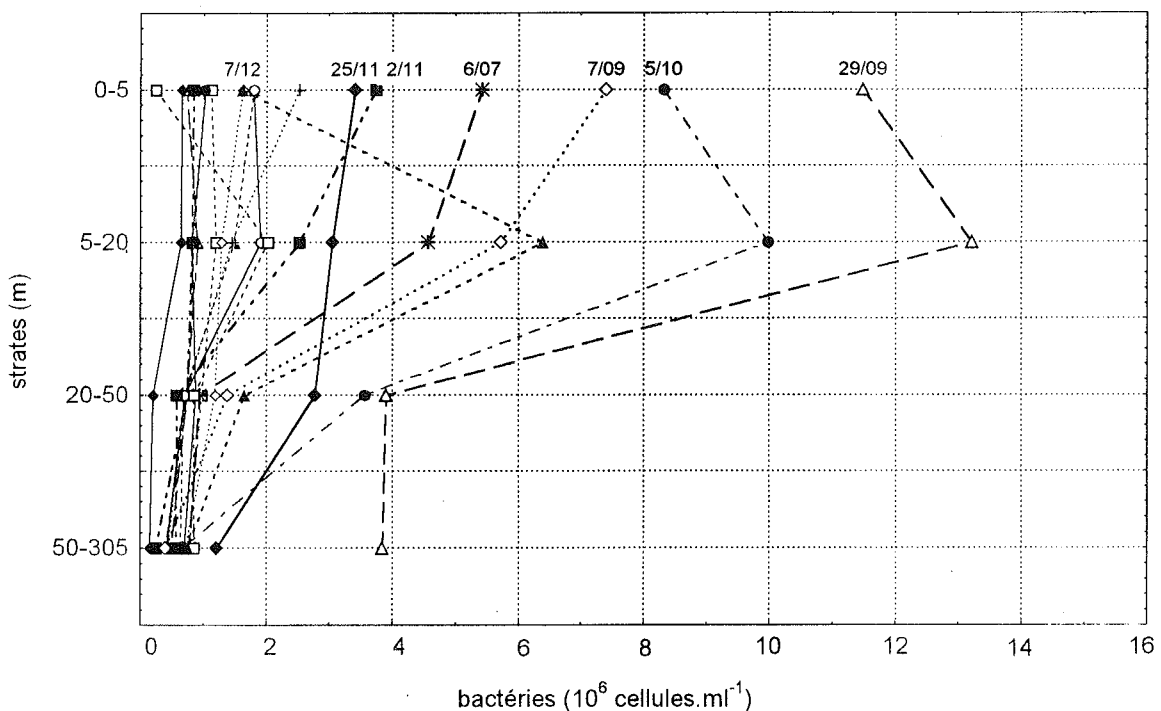


Figure 1 : Evolution saisonnière de la stratification de la concentration des bactéries (dénombrement après coloration au DAPI) au point SHL2 durant l'année 1998. Seules sont indiquées les dates pour lesquelles l'écart des concentrations le long du profil est supérieur à  $2 \cdot 10^6$  bactéries/ml.

### 3.2 Evolutions saisonnières des nutriments organiques

Les variations saisonnières du carbone organique dissous (COD) sont relativement faibles (figure 2A). Un seul pic marquant est observé le 29.09 dans la strate 0-5 m qui trouve sa correspondance dans plusieurs descripteurs bactériens (concentration en bactéries, production). La figure 3A montre que la variabilité reste également faible dans chaque strate, à l'exception des strates 0-5 m et 20-50 m, en été et en automne.

Les valeurs relatives du carbone organique dissous biodégradable (CODB) sont globalement plus variables (figure 3B), notamment en fonction des saisons. L'ordre de grandeur de ce descripteur se situe entre 25 et 35 % de la valeur du COD, les valeurs les plus fortes étant enregistrées au niveau du métalimnion (respectivement 34.7 % et 32.8 % pour le métalimnion bas et pour le métalimnion haut, en moyenne annuelle, (tableau 1) et les valeurs les plus faibles dans l'hypolimnion (27.3 % en moyenne annuelle). C'est en été et en début d'automne qu'apparaissent les plus forts pourcentages de CODB (jusqu'à 78 % du COD).

### 3.3 Evolutions saisonnières des bactéries

#### *Cas de l'ensemble des communautés bactériennes*

Les variations saisonnières de la concentration des bactéries (figure 4A) sont très marquées avec des pics importants en été (campagne du 04.08) et en automne (campagne du 29.09). Lors de ces épisodes la concentration atteint des valeurs entre 10 et 18 fois plus fortes que celles du niveau de base relevé lors des autres saisons (environ  $10^6$  cellules par ml). La figure 5A montre que les valeurs sont plus stables dans les strates profondes que dans les strates de surface, sauf en automne. Dans toutes les strates, c'est à cette saison que la variabilité est la plus grande. En moyenne annuelle, les plus fortes concentrations se situent dans la partie haute du métalimnion (tableau 1).

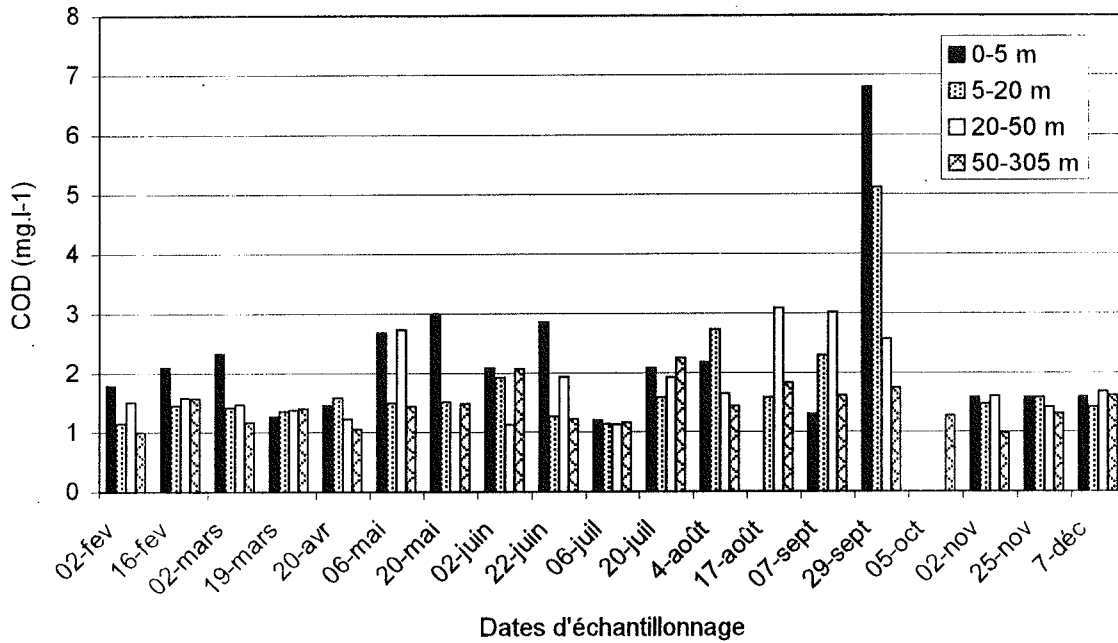
Le niveau de base de la production bactérienne, le 07.12 et le 02.02, par exemple (figure 4B), est de l'ordre de 10 à 20 ng de carbone par litre et par heure. Quatre épisodes de fortes valeurs se superposent à ce niveau au cours de l'année, intégrant respectivement les campagnes du 16.02 au 19.03, du 02.06 et du 22.06, du 20.07 et du 04.08 et surtout du 07.09 au 25.11. Les valeurs les plus fortes, lors de cet épisode automnal, sont de l'ordre de 9 à 18 fois plus élevées que celles du niveau de base. La figure 5B montre que leur variabilité est nettement moins forte dans l'hypolimnion que dans toutes les autres strates confondues. L'évolution saisonnière de l'écart type des moyennes n'est pas nette.

#### *Cas des bactéries métaboliquement actives*

La concentration des bactéries métaboliquement actives (BMA) subit de fortes variations saisonnières (figure 6A) avec une phase printanière qui culmine le 20.04, suivie d'une forte baisse des valeurs en correspondance avec la phase des eaux claires (06.05) identifiée au niveau du phytoplancton. Après cette phase, les valeurs croissent de nouveau rapidement pour culminer lors de la campagne du 02.06. Elles décroissent ensuite vers un minimum situé fin août - début septembre. Deux nouveaux pics de plus faible ampleur apparaissent en fin d'année, l'un en automne (29/09), l'autre en hiver (07.12). Les fortes valeurs du mois d'avril sont 33 fois plus importantes que les plus petites valeurs enregistrées au cours de l'ensemble de l'année. La figure 7A montre que les strates sont similaires du point de vue de la variabilité de la concentration des BMA et, par contre, que cette variabilité tend à décroître depuis les campagnes de printemps vers celles d'hiver.

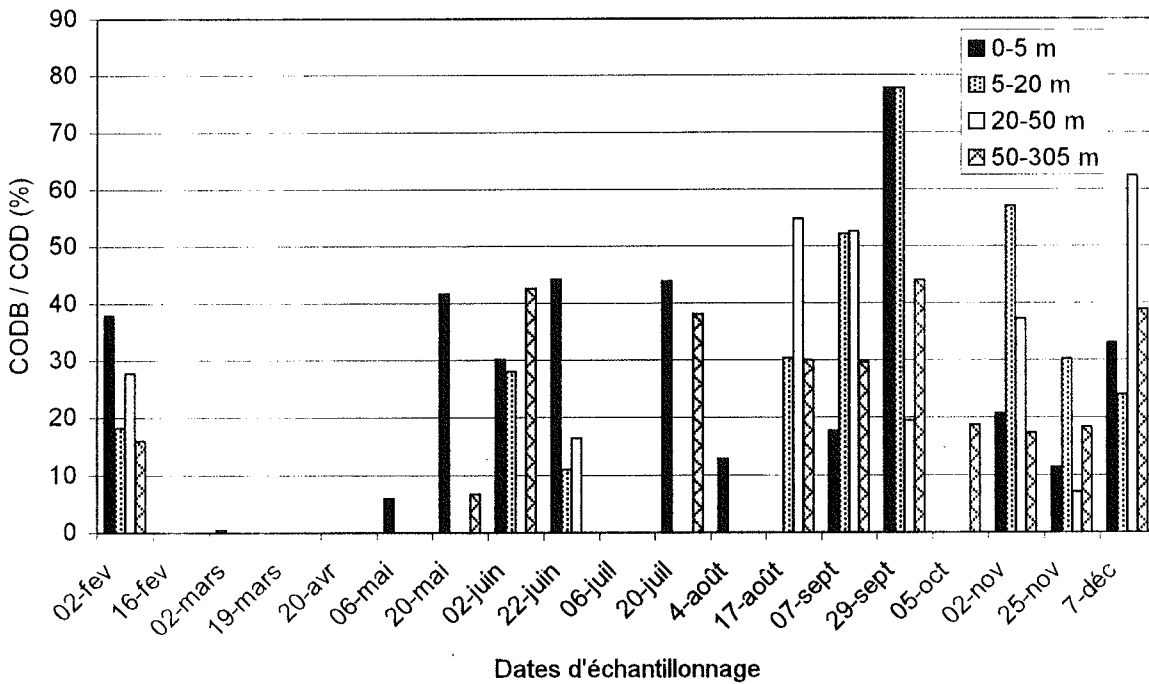
Le schéma des variations saisonnières de la concentration des BMA se répète quasi à l'identique lorsque leur concentration est exprimée en pourcentage de la concentration de l'ensemble des bactéries (dénombrées après coloration au DAPI). Les valeurs les plus fortes se situent entre 15 et 24 % et les plus faibles sont de l'ordre de 0.2 %. L'amplitude des variations à l'échelle annuelle est de l'ordre de 95 fois.

Carbone organique dissous



A

Pourcentage de carbone organique dissous biodégradable



B

Figure 2 : Variations saisonnières et stratification de la concentration du carbone organique dissous (COD, A) et de l'importance relative du carbone organique dissous biodégradable (CODB, B) au point SHL2 en 1998. Les valeurs des strates 0-5 m, 5-20 m et 20-50 m sont manquantes pour la campagne du 5 octobre.

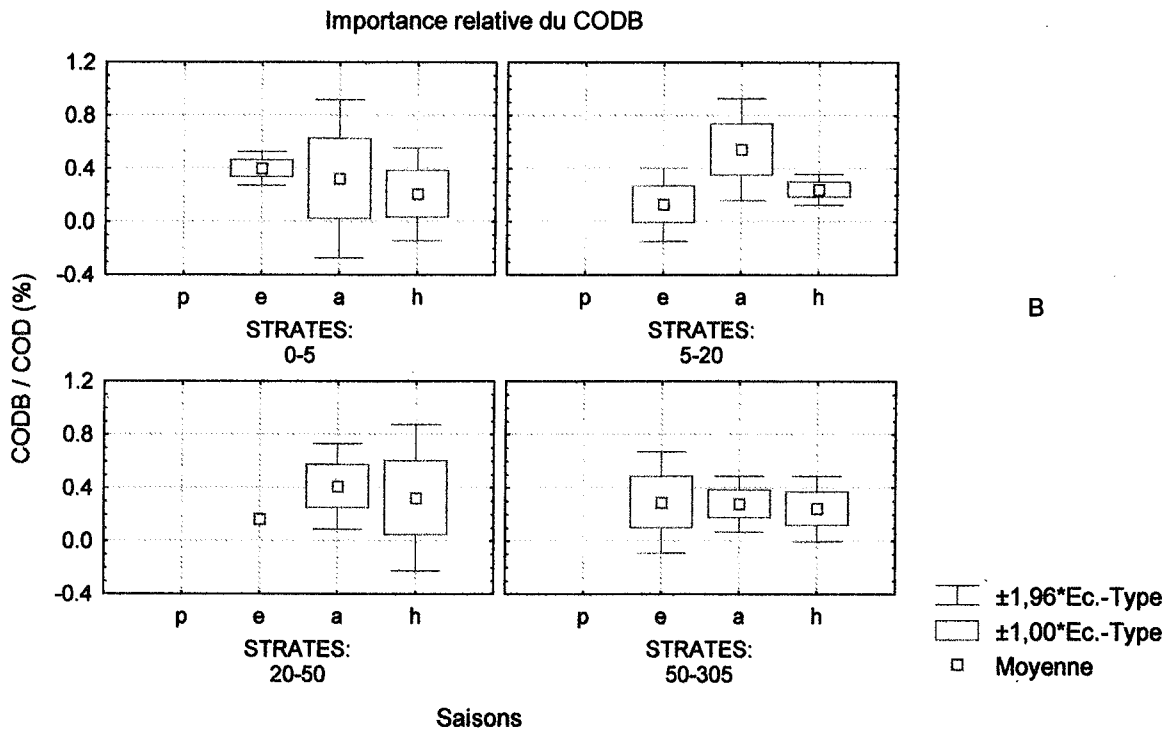
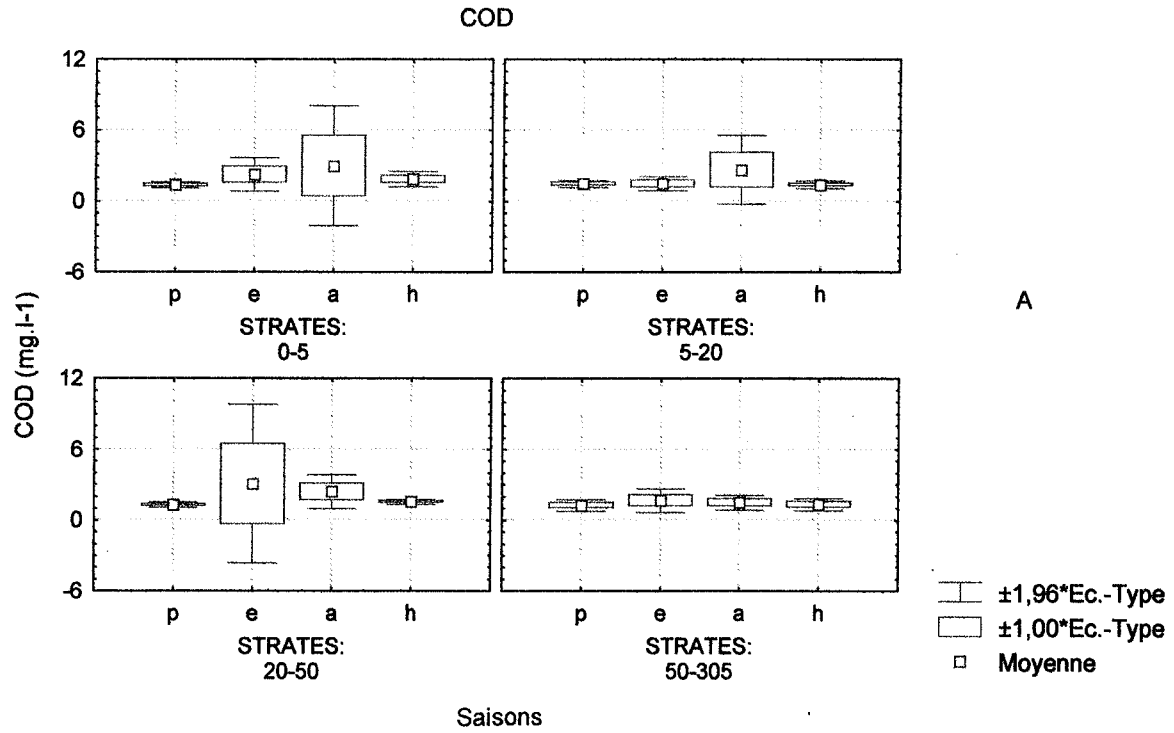


Figure 3 : Valeurs moyennes et variabilité du carbone organique dissous (COD) et de l'importance relative du carbone organique dissous biodégradable (CODB) par strate et par saison (campagne 1998). p = printemps (campagnes du 19.03 au 22.06), e = été (campagnes du 06.07 au 29.09), a = automne (campagnes du 05.10 au 07.12), h = hiver (campagnes du 02.02 au 02.03).

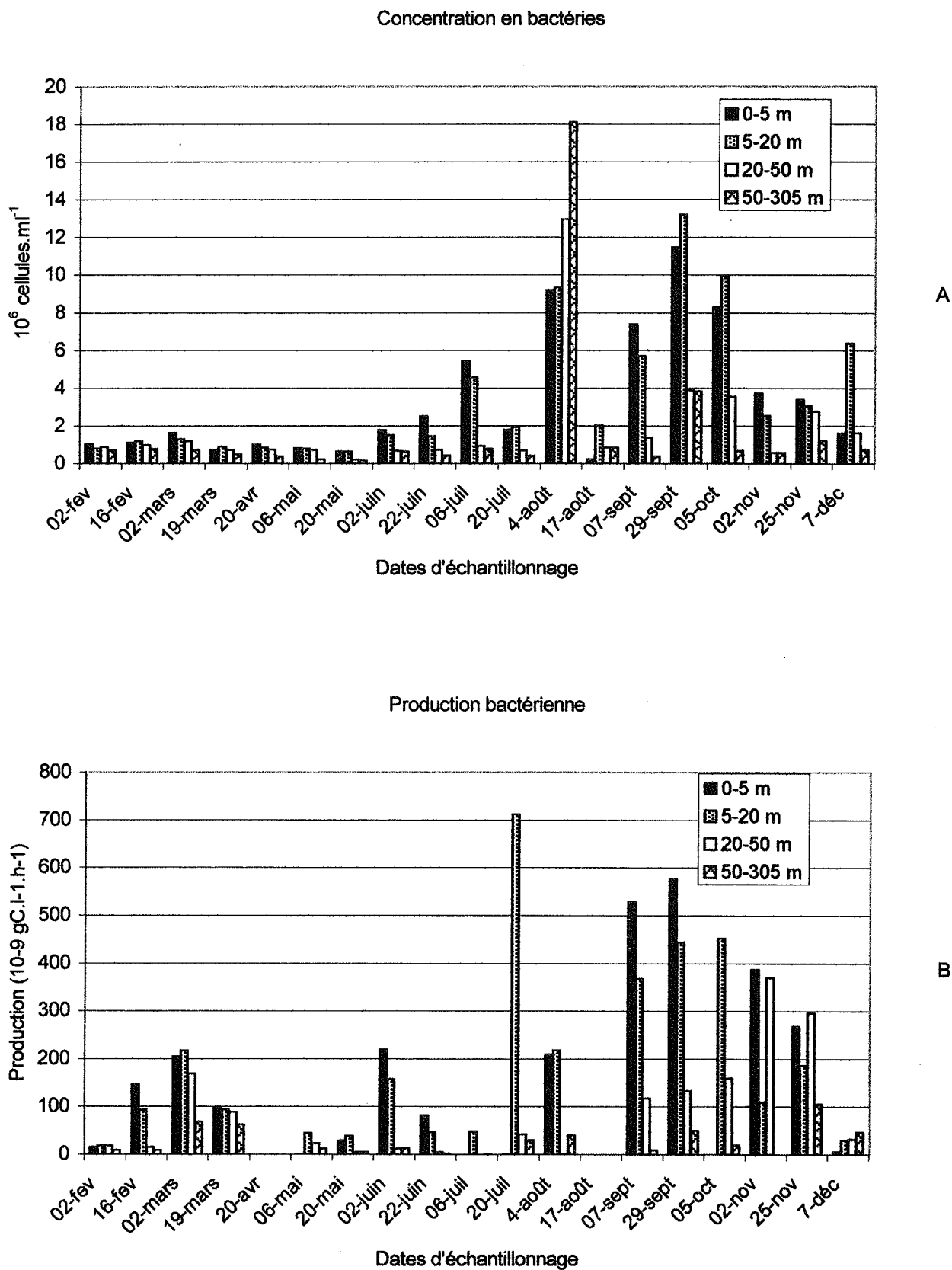


Figure 4 : Variations saisonnières et stratification de la concentration en bactéries (coloration au DAPI, A) et de la production bactérienne (B) au point SHL2 en 1998. L'absence de valeurs pour certaines strates (notamment pour les campagnes du 20.04 et du 19.08) indique qu'elles sont manquantes, les valeurs mesurées les plus faibles étant toujours significativement supérieures à zéro.

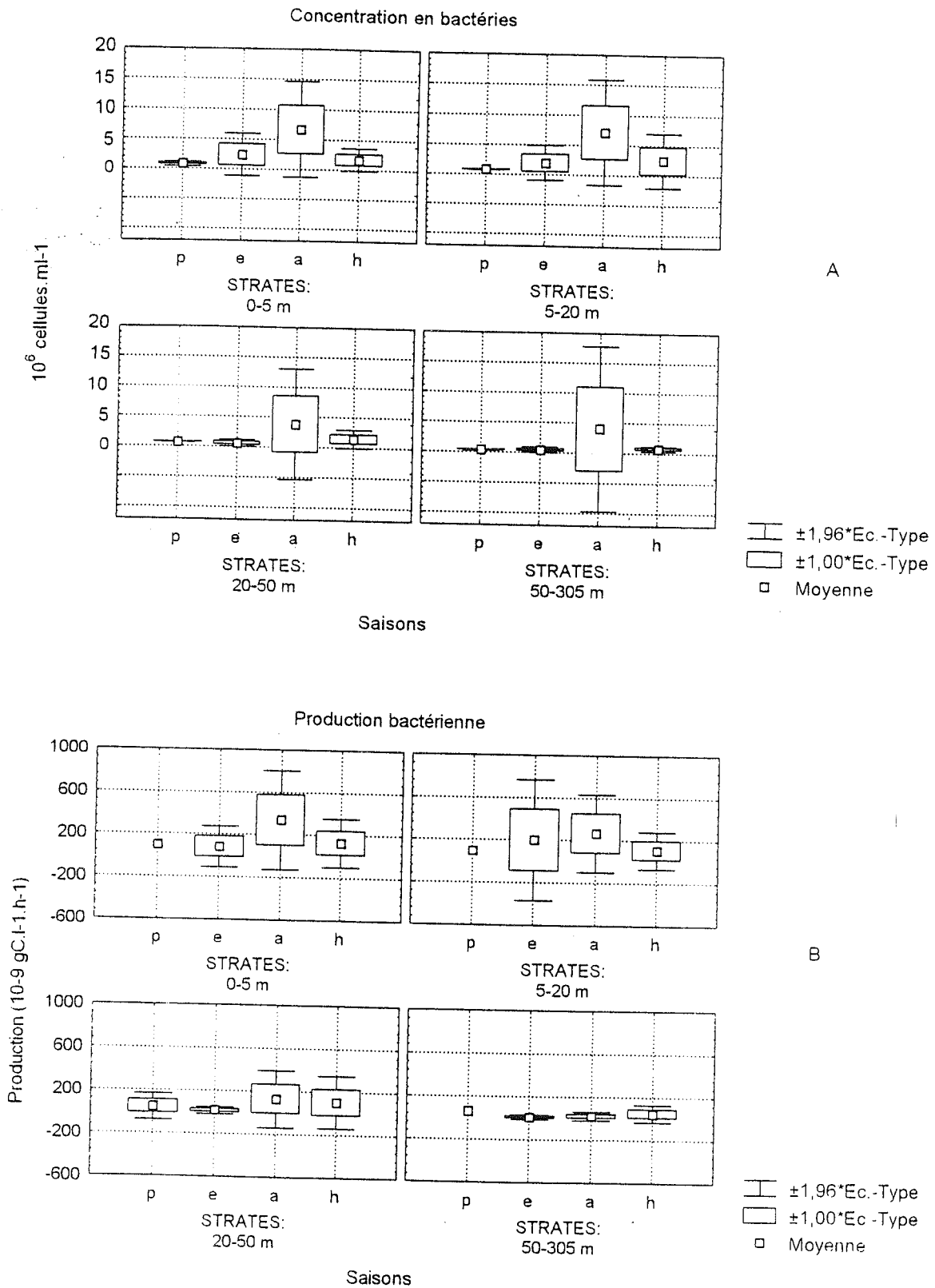


Figure 5 : Valeurs moyennes et variabilité de la concentration des bactéries (coloration au DAPI, A) et de la production bactérienne (B), par strate et par saison (campagne 1998).  
 p = printemps (campagnes du 19.03 au 22.06), e = été (campagnes du 06.07 au 29.09),  
 a = automne (campagnes du 05.10 au 07.12), h = hiver (campagnes du 02.02 au 02.03).

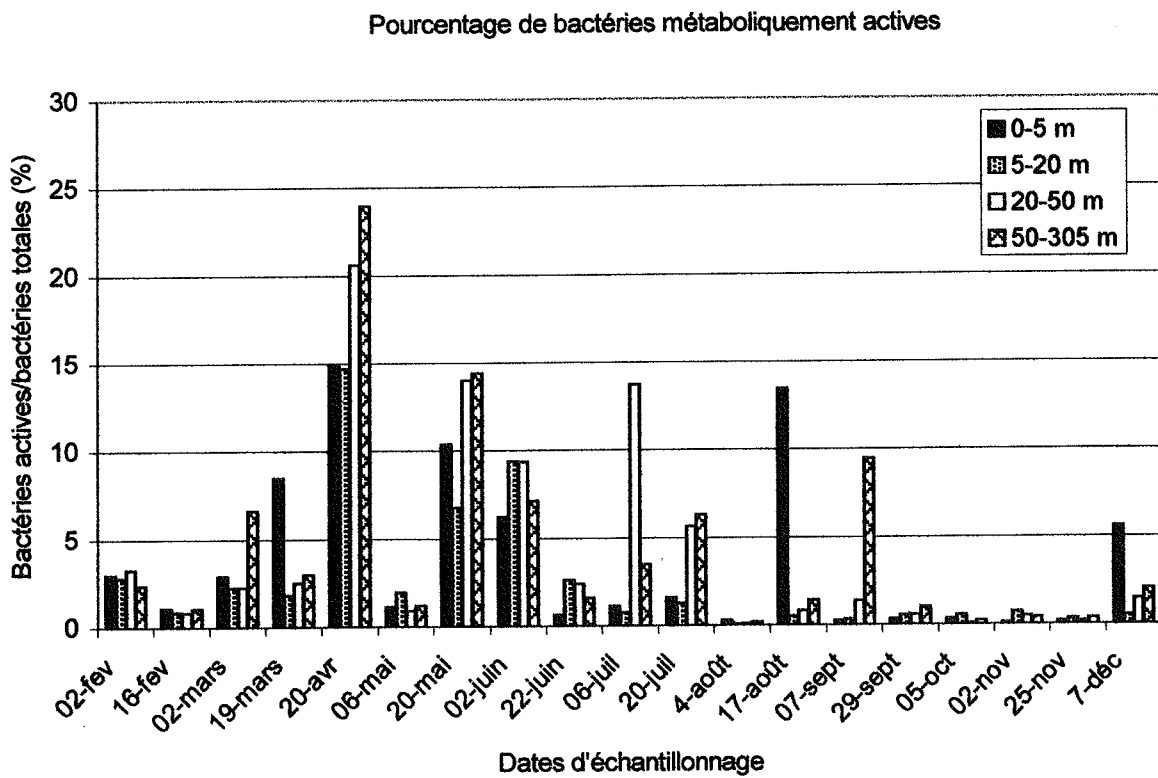
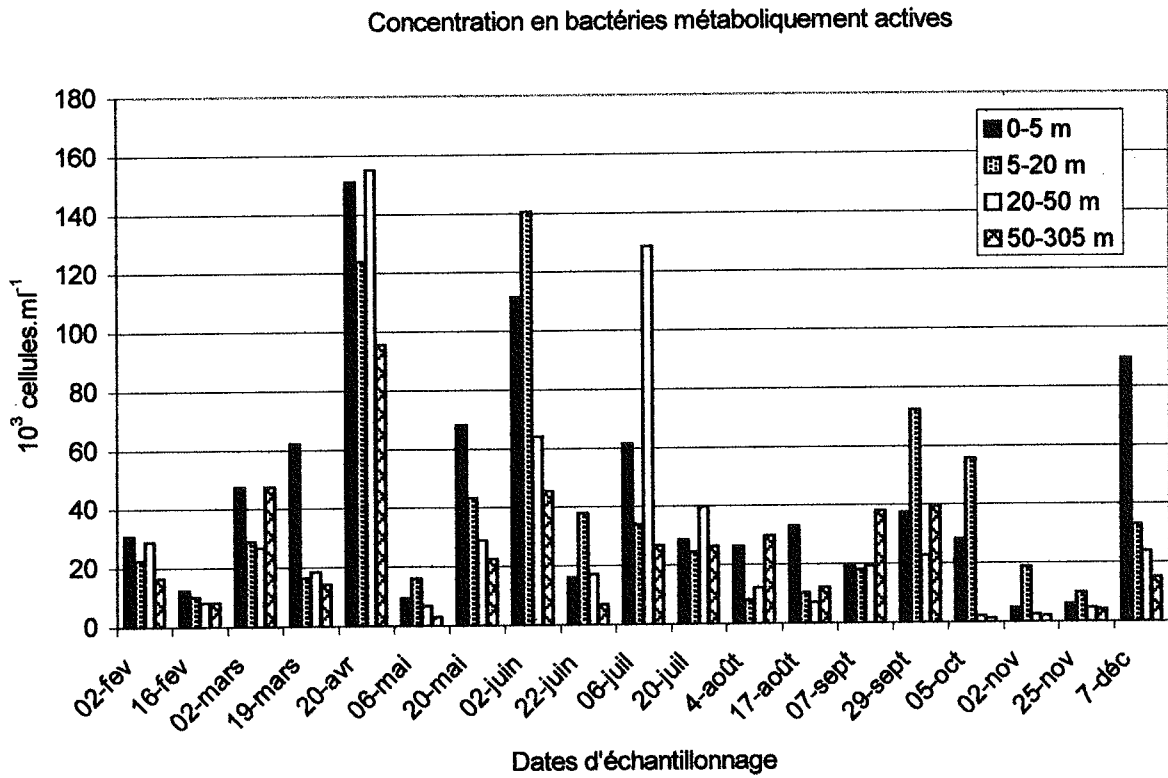


Figure 6 : Variations saisonnières et stratification de la concentration des bactéries métaboliquement actives (A) et de leur importance relative vis-à-vis de la concentration de l'ensemble des bactéries (rapport bactéries CTC-actives/bactéries colorées au DAPI, B) au point SHL2 (campagne 1998).



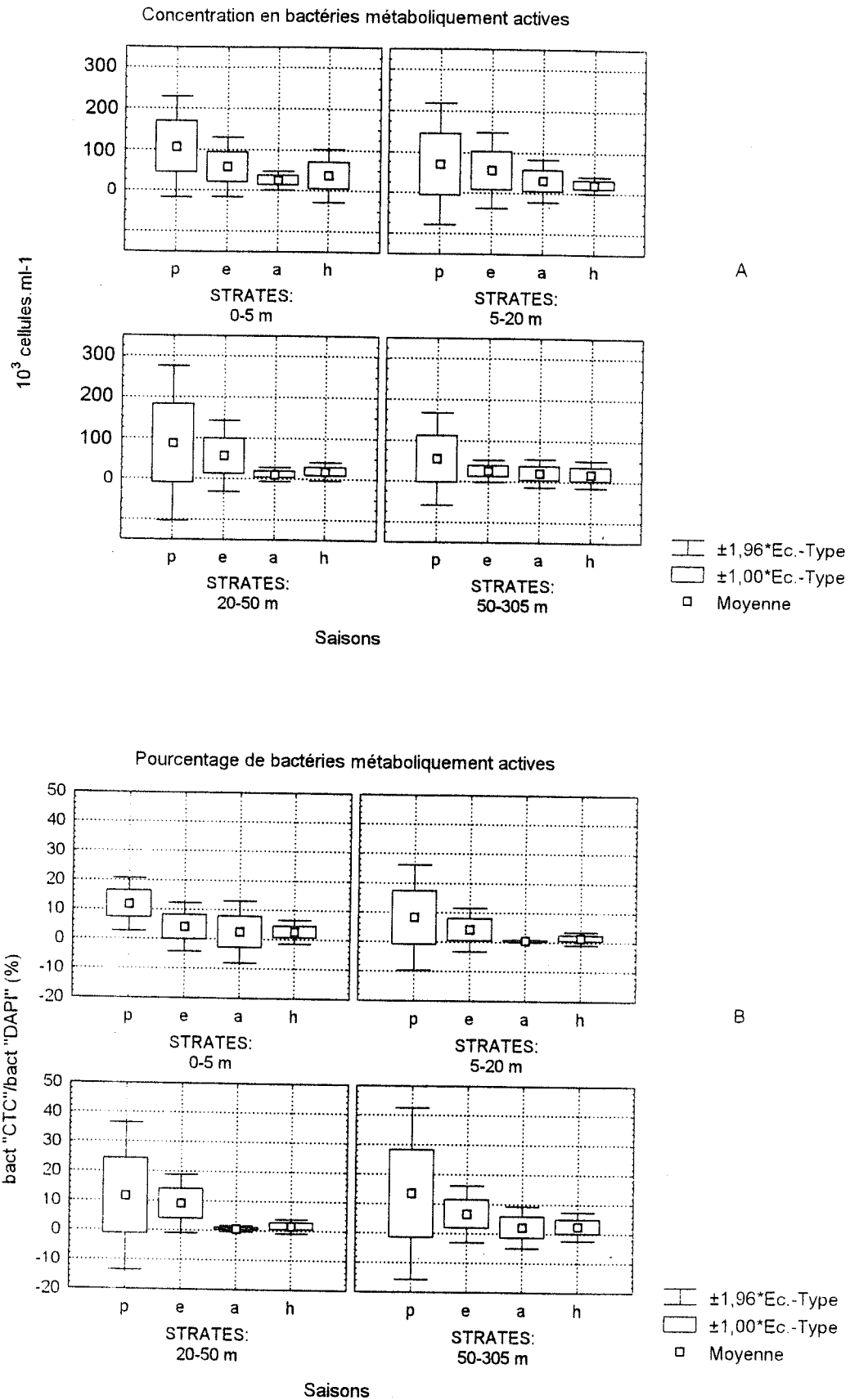


Figure 7 : Valeurs moyennes et variabilité par strate et par saison de la concentration des bactéries métaboliquement actives (marquées au CTC-formazan, A) et de leur importance relative vis-à-vis de l'ensemble des bactéries (dénombrées après coloration au DAPI, B). Campagne 1998. p = printemps (campagnes du 19.03 au 22.06), e = été (campagnes du 06.07 au 29.09), a = automne (campagnes du 05.10 au 07.12), h = hiver (campagnes du 02.02 au 02.03).

TABLEAU 1 - Moyennes annuelles par strate et écarts types des descripteurs des communautés bactériennes et de leurs nutriments organiques.

Strates	Bactéries totales (cellules/ml)		Bactéries actives (cellules/ml)		% Bact. act.
	Moyennes	Ecart-Type	Moyennes	Ecart-Type	Moyenne
0-5 m	3.37 E+06	3.36 E+06	4.45 E+04	3.87 E+04	3.8
5-20 m	3.59 E+06	3.69 E+06	3.82 E+04	3.72 E+04	2.6
20-50 m	1.90 E+06	2.86 E+06	3.26 E+04	4.15 E+04	4.2
50-305 m	1.69 E+06	4.05 E+06	2.40 E+04	2.28 E+04	4.5

Strates	COD (mg/l)		CODB (mg/l)		% CODB
	Moyennes	Ecart-Type	Moyennes	Ecart-Type	Moyennes
0-5 m	2.23	1.30	0.90	1.38	29.0
5-20 m	1.78	0.92	0.82	1.16	32.8
20-50 m	1.83	0.64	1.58	2.44	34.7
50-305 m	1.45	0.35	0.46	0.30	27.3

Strates	Production bactér. (ngC/l.h)	
	Moyennes	Ecart-Type
0-5 m	173.26	187.34
5-20 m	182.20	194.13
20-50 m	82.76	108.03
50-305 m	28.53	29.69

### 3.4 Valeurs intégrées des descripteurs sur la hauteur de la colonne d'eau

L'examen des valeurs intégrées des descripteurs (tableau 2) ne fait que confirmer les résultats de l'analyse détaillée précédente. La figure 8A montre une assez bonne corrélation entre le carbone organique dissous (COD) et le carbone organique dissous biodégradable (CODB) ce qui suggère une origine plutôt autochtone du COD. La relation du CODB avec la production primaire n'est cependant pas très nette, les variations de la concentration en CODB pouvant, selon les cas, accompagner celles de la production phytoplanctonique (figure 8A, situation S3) ou les suivre avec un décalage plus ou moins grand en liaison avec la lyse d'une partie des cellules. C'est l'interprétation que l'on peut faire des situations S1 et S2.

Les valeurs intégrées des descripteurs permettent, en outre, de faire plus aisément la comparaison entre l'activité du bactérioplancton et celle du phytoplancton. Le tableau 2 montre ainsi qu'en moyenne, le pourcentage de bactéries métaboliquement actives s'établit à 4 % environ de la concentration totale de bactéries, que la proportion de CODB dans le COD est de 27 % et que la production bactérienne représente près de 23 % de la production primaire phytoplanctonique.

TABLEAU 2 - Valeurs des descripteurs intégrées sur la totalité de la colonne d'eau

Date	Bact. tot. (cell. / m <sup>3</sup> )	Bact. activ. (cell. / m <sup>3</sup> )	Bact. activ. (%)	Product. bact. (mgC / m <sup>2</sup> .j)	COD (mg / m <sup>3</sup> )	CODB (mg / m <sup>2</sup> )	CODR (mg / m <sup>3</sup> )	CODB / COD (%)	Prod. phytopl. (mgC / m <sup>2</sup> .j)	Prod. bact. / Prod. phytopl. (%)
02.02.98	2.21 E+14	5.58 E+12	2.5	80.6	326.5	59.9	266.5	18.3	221.8	36.3
16.02.98	2.52 E+14	2.57 E+12	1.0	118.0	480.2		480.2		564.1	20.9
02.03.98	2.46 E+14	1.36 E+13	5.5	641.9	375.2	0.1	375.2	<0.1	1'054.9	60.8
19.03.98	1.64 E+14	4.81 E+12	2.9	494.2	422.1		422.1		1'081.5	45.7
20.04.98	1.42 E+14	3.17 E+13	22.2	0.9	335.3		335.3		1'593.9	0.1
06.05.98	1.01 E+14	1.25 E+12	1.2	109.6	484.8	0.8	484.0	0.1	649.5	16.8
20.05.98	5.94 E+13	7.66 E+12	12.9	54.4	689.2	269.3	419.9	39.1	1'459.6	3.7
02.06.98	2.15 E+14	1.62 E+13	7.5	172.9	601.1	235.6	365.5	39.2	1'415.5	12.2
22.06.98	1.67 E+14	2.92 E+12	1.7	43.3	402.6	18.0	384.6	4.4	1'736.2	2.5
06.07.98	3.20 E+14	1.15 E+13	3.6	22.9	352.8		318.9		2'043.4	1.1
20.07.98	1.66 E+14	8.43 E+12	5.0	470.7	668.4	223.8	362.8	33.5	2'832.4	16.6
04.08.98	5.19 E+15	8.25 E+12	0.1	347.1	468.5	1.4	426.2	0.3	2'101.8	16.5
17.08.98	2.74 E+14	3.65 E+12	1.3		583.3	198.4	384.9	34.0	2'617.7	
07.09.98	2.67 E+14	1.07 E+13	4.0	339.1	544.7	189.2	355.4	34.7	2'182.5	15.5
29.09.98	1.35 E+15	1.20 E+13	0.9	629.7	634.1	297.4	336.7	46.9	1'569.5	40.1
05.10.98	4.69 E+14	1.40 E+12	0.3	396.8	326.4	61.2	265.2	18.7	1'172.7	33.8
02.11.98	2.18 E+14	9.58 E+11	0.4	352.0	328.2	75.6	252.6	23.0	697.6	50.4
25.11.98	4.54 E+14	1.40 E+12	0.3	960.1	408.4	72.3	336.1	17.7	434.2	221.1
07.12.98	3.42 E+14	5.52 E+12	1.6	319.9	492.8	199.9	292.9	40.5	273.9	116.8
Moyennes	5.59 E+14	7.90 E+12	3.9	308.6	469.7	126.8	361.3	27.0	1'352.8	22.8

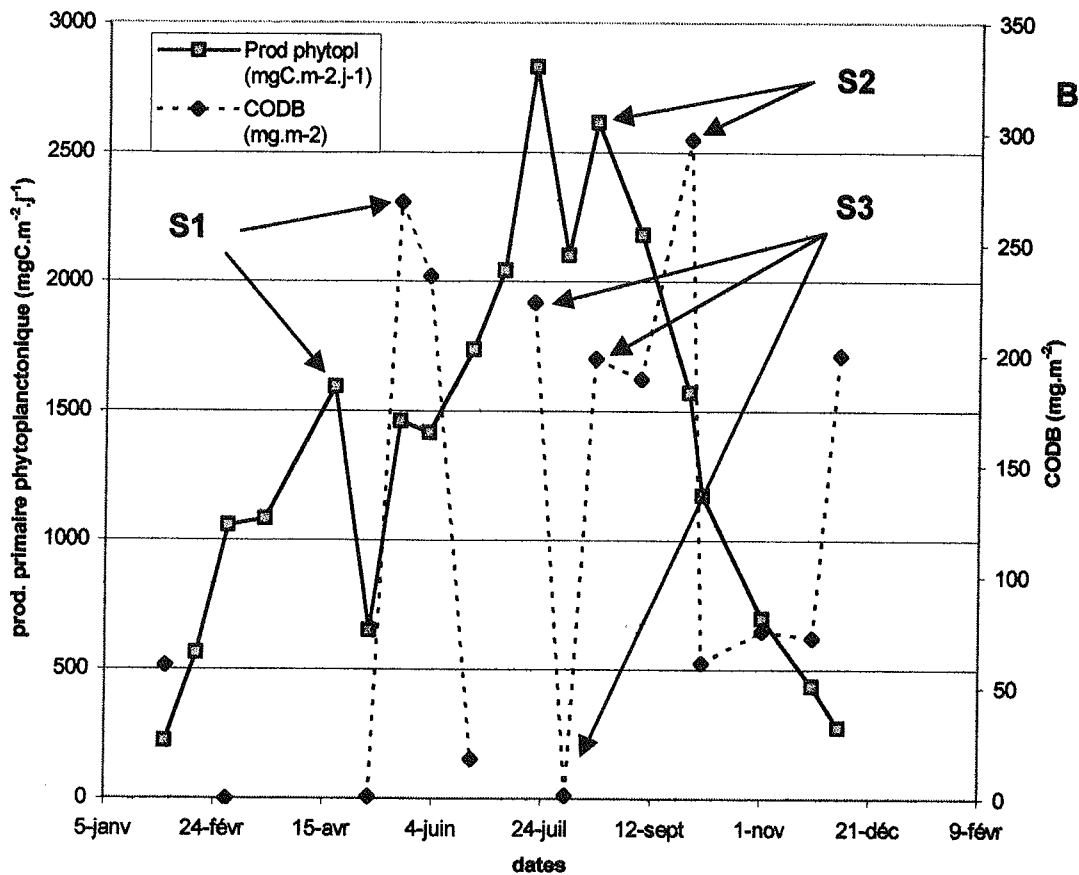
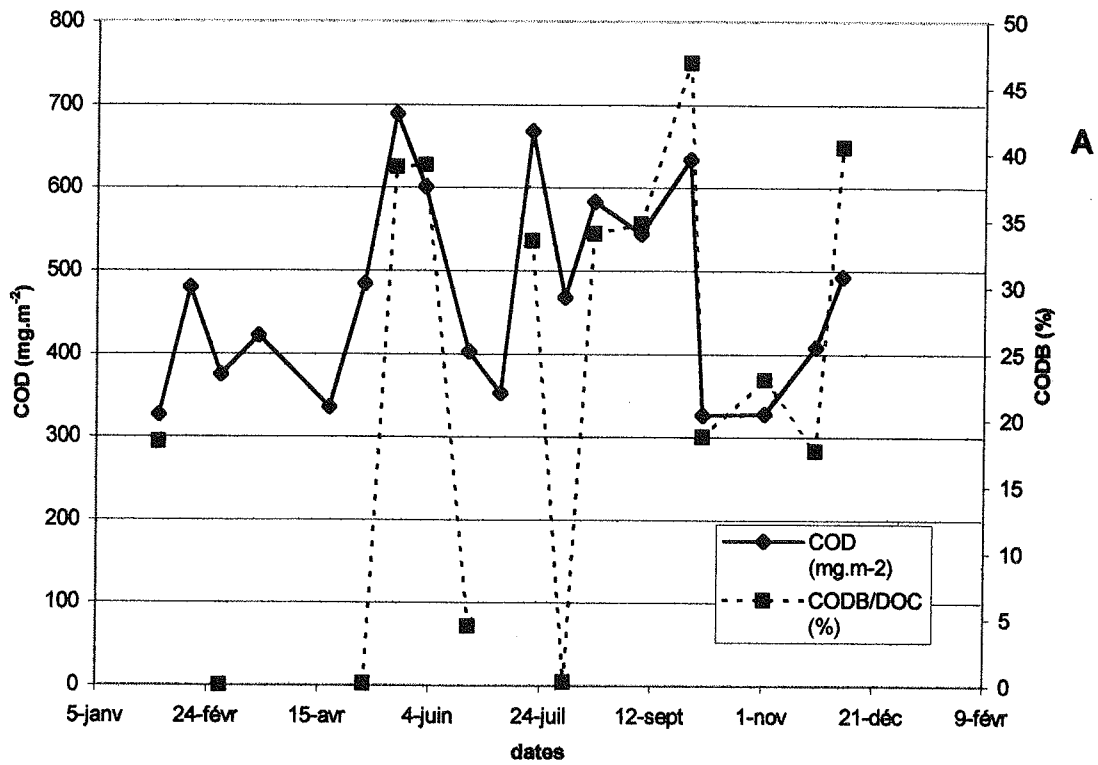


Figure 8 A : Comparaison des évolutions annuelles du COD et du pourcentage de carbone organique dissous biodégradable (CODB) durant l'année 1998.

B : Comparaison des évolutions annuelles de la production primaire phytoplanctonique et de la concentration en carbone organique dissous biodégradable (CODB). Campagne 1998. S1, S2, S3 : dates d'événements particuliers auxquels il est fait référence dans le texte.

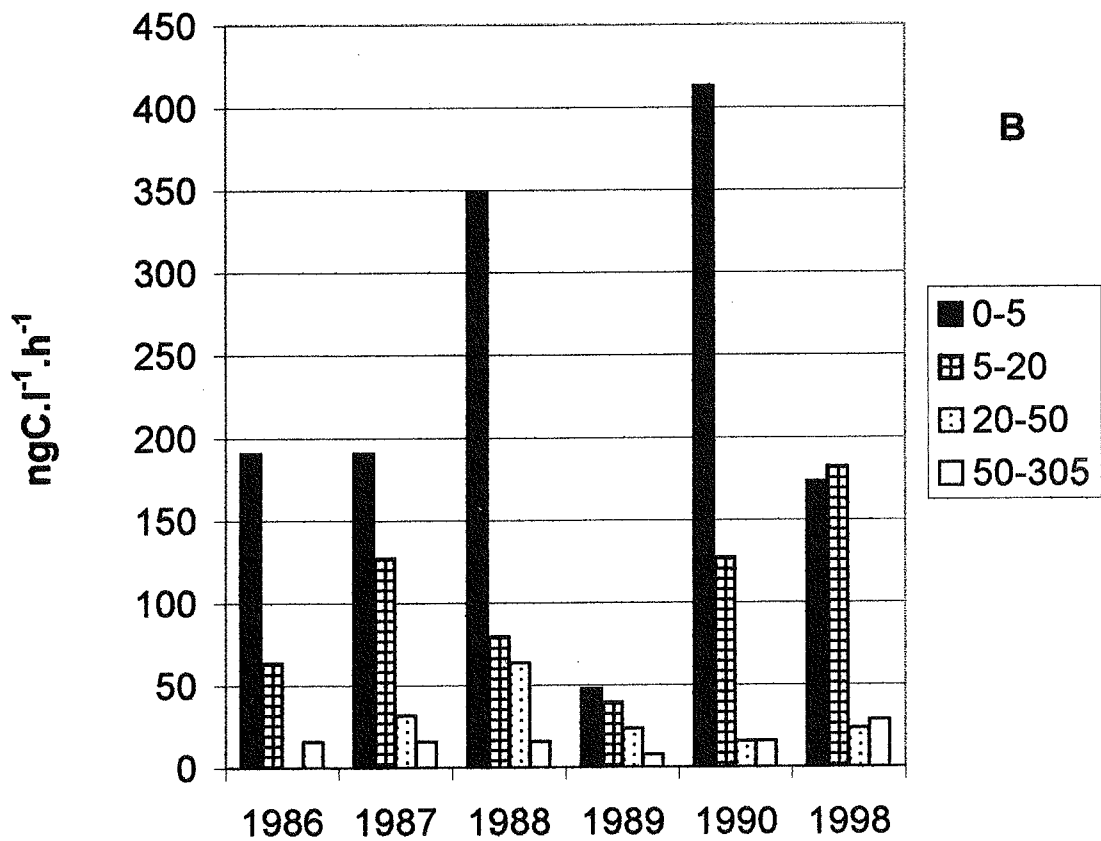
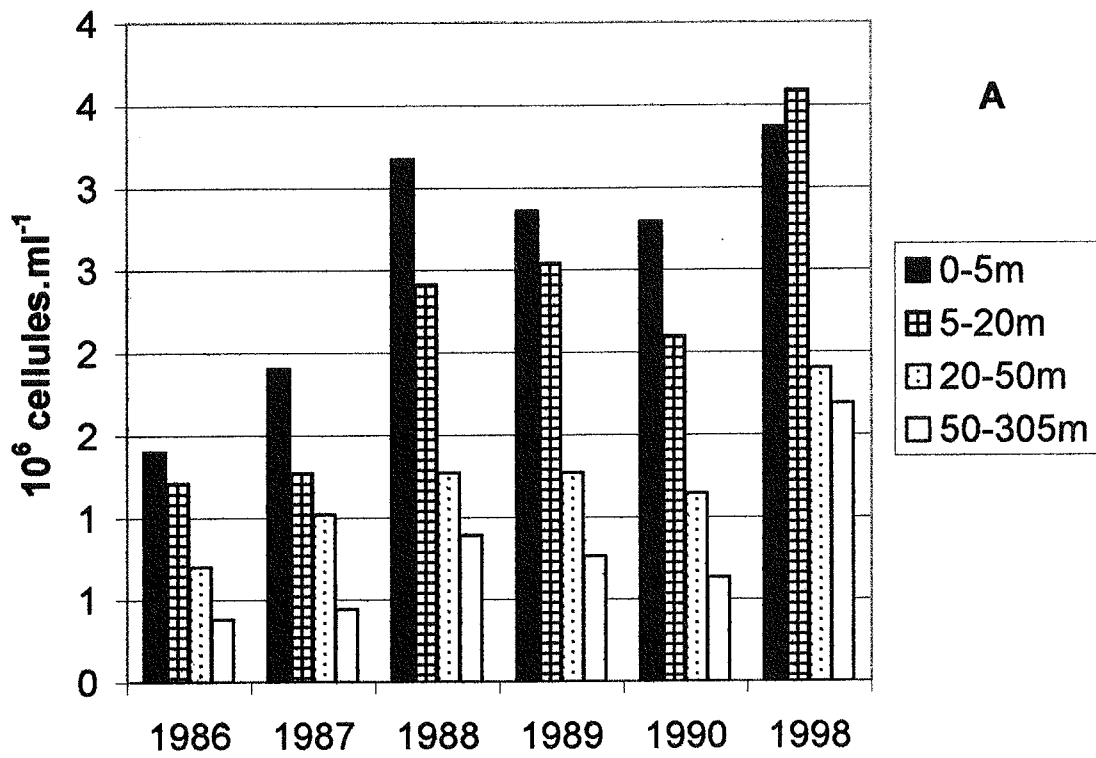


Figure 9 : Evolution des concentrations (A) et de la production bactérienne (B) par strate de 1986 à 1998.

#### 4. CONCLUSIONS

Comme nous l'attendions, les deux analyses nouvellement introduites dans l'auscultation du bactérioplancton du Léman se sont révélées intéressantes pour la compréhension de l'évolution du système. Ainsi, seul un peu plus d'un quart du carbone organique dissous (les 27 % du CODB) semble expliquer les variations observées de la biomasse et de l'activité bactérienne. Cette proportion varie cependant dans une large mesure selon les saisons, entre 0.01 et 47 %. Les valeurs les plus élevées se situent dans l'épilimnion et dans la partie supérieure du métalimnion bien que ces strates soient aussi celles où le CODB est le plus consommé. Les mécanismes de production seraient donc, la plupart du temps, supérieurs aux mécanismes de consommation.

Du point de vue des bactéries elles-mêmes, les analyses montrent que seul un très petit pourcentage des cellules présentes est métaboliquement actif. Ce pourcentage est plus élevé au printemps alors que, paradoxalement, des valeurs plutôt faibles de la production bactérienne sont enregistrées. Cette contradiction trouve probablement une partie de son explication dans la régulation des biomasses bactériennes par les prédateurs.

La concentration moyenne des bactéries par strate est supérieure à ce qu'elle était en 1990 (figure 9 A) mais la variation est moins nette pour l'épilimnion que pour les autres strates. Le dernier rapport sur l'auscultation du bactérioplancton du Léman (campagne 1990) faisait mention d'une décroissance de la concentration en bactéries durant les trois dernières années avec une valeur moyenne de  $2,3 \cdot 10^6$  cellules par ml dans la couche de 0 à 20 m.

La moyenne annuelle de la production bactérienne dans l'épilimnion est, par contre, nettement inférieure à ce qu'elle était en 1990 (figure 9B) alors qu'elle augmente dans la strate 5-20 m. Pour l'ensemble de la colonne d'eau, la production bactérienne moyenne représentait en 1990, 28 % de la production phytoplanctonique nette. En 1998, elle s'est établie à  $308 \text{ mgC/m}^2 \cdot \text{j}$  soit 22.7 % de la production phytoplanctonique. Ce résultat peut être dû, en partie, à l'accroissement de la production primaire qui était de  $258 \text{ gC/m}^2 \cdot \text{an}$  en 1990 et qui atteint  $272 \text{ gC/m}^2 \cdot \text{an}$  en 1998.

Bien que médiocre, la corrélation observée durant la campagne 1998, entre le COD et le CODB est en faveur d'une origine essentiellement autochtone de la matière organique au niveau du point d'échantillonnage (point SHL2). Le rapprochement des variations de la concentration des bactéries avec la biomasse et avec la production primaire phytoplanctoniques (DRUART et al., 1999; PELLETIER et al., 1999) montre, selon le cas, que le lien avec le phytoplancton est immédiat (travail sur les produits "excrétés" directement durant la photosynthèse) ou décalé (travail de décomposition sur les cadavres des végétaux). On peut noter à ce sujet que les deux principaux maxima par lesquels passe la concentration en bactéries se situent, dans le temps, en aval des deux maxima de la biomasse phytoplanctonique et décalés respectivement de 29 et de 43 jours.

Le travail de décomposition de la matière organique semble se faire essentiellement dans la partie haute du métalimnion si l'on en juge à travers la concentration totale des bactéries et la production bactérienne. C'est cependant dans la partie basse du métalimnion (là où on enregistre le plus fort pourcentage de CODB) et, paradoxalement, dans l'hypolimnion que s'établissent en moyenne annuelle les plus grands pourcentages de bactéries actives.

#### BIBLIOGRAPHIE

- DRUART, J.-C., REVACLIER, R., PELLETIER, J.P. et VANSTEELANT-EL JAY, A. (1999) : Evolution du phytoplancton du Léman. Rapp. Comm. Int. prot. eaux Léman contre pollut., Campagne 1998.
- DUFOUR, P. et COLON, M. (1991) : Le bactérioplancton du Léman. Rapp. Comm. Int. prot. eaux Léman contre pollut., Campagne 1990, 83-89.
- FUHRMAN, J. A. et AZAM, F. (1982) : Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. *Mar.Biol.*, 66, 109-120.
- PELLETIER, J.P. et LÉBOULANGER, C. (1999) : Evolution de la production phytoplanctonique dans le Léman. Rapp. Comm. Int. prot. eaux Léman contre pollut., Campagne 1998.
- PORTER, K. G. et FEIG, Y. S. (1980) : Use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol.Oceanogr.*, 25, 943-948.
- RODRIGUEZ, G. G., PHIPPS, D., ISHIGURO, K. R. et RIDGWAY, H. F. (1992) : Use of a fluorescent redox probe for direct visualization of actively respiring bacteria. *Appl.Environ.Microbiol.*, 58(6), 1801-1808.
- SERVAIS, P., BILLEN, G. et HASCOET, M. C. (1987) : Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. *Wat.Res.* 21(4), 445-450.