

N° D'ORDRE : 86

THESE

Présentée à

L'UNIVERSITE BLAISE PASCAL CLERMONT II
Unité de Formation et de Recherche Scientifique et Technique

Pour obtenir le titre de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

par

Olivier MARVALIN

Abondance, biomasse, activité et relations trophiques des
communautés bactériennes hétérotrophes
du lac d'Aydat (Puy de Dôme).
Contribution à l'étude du fonctionnement des systèmes aquatiques.

Soutenue publiquement le 13 avril 1988
devant la Commission d'examen :

MM.	P. De PUYTORAC	Président
	J. GRAIN Ph. DUFOUR	Rapporteurs
	J. DEVAUX A. BIANCHI P. SERVAIS Ph. GOUET	Examineurs

RESUME

Dans le cadre d'une action pluridisciplinaire, relative à l'étude du phénomène d'eutrophisation des écosystèmes limniques, ce présent travail réalisé sur le lac d'Aydat (Massif Central, France) constitue la première étude **descriptive** du compartiment bactérien et de ses relations avec les divers paramètres physico-chimiques et biotiques du milieu.

L'abondance bactérienne, déterminée par comptage direct en épifluorescence, varie de 0,69 à $12,72 \times 10^6$ cellules.ml⁻¹. Ce résultat confirme le caractère eutrophe attribué au lac d'Aydat. Nous avons observé une relative homogénéité de la densité cellulaire sur l'ensemble de la colonne d'eau, les valeurs moyennes pour les trois niveaux de référence : 2-7 et 14 mètres étant respectivement de 3,70 ; 4,23 et $3,66 \times 10^6$ cellules.ml⁻¹. Dans l'épilimnion, les variations des densités bactériennes sont en relation avec l'activité phytoplanctonique.

Les valeurs de biomasse varient quant à elles de 0,15 à $43,5 \times 10^{-2}$ mg C.l⁻¹. L'évolution de ces valeurs suit globalement celle de l'abondance.

Les variations spatiales et temporelles de l'activité hétérotrophe potentielle, mesurées *in situ* par assimilation de ¹⁴C glucose, sont comprises entre 0,001 et 0,58 µg C.l⁻¹.h⁻¹. En zone trophogène, le compartiment phytoplanctonique apparaît comme le principal régulateur de cette activité. L'étude réalisée par classes de taille, montre l'importance que peuvent avoir les épibactéries (40 % de l'activité totale). L'importance relative de la fixation bactérienne apparaît largement dépendante de la nature du matériel particulaire présent, les algues mucillagineuses telles que les *Gomphosphaeria* offrant un support particulièrement favorable à la colonisation microbienne.

L'ensemble de nos résultats laissent supposer que les divers peuplements bactériens qui se succèdent au cours du cycle d'observation possèdent des stratégies de développement différentes. On assiste en effet au remplacement d'un peuplement printannier présentant les caractéristiques écophysologiques des stratégies r par un peuplement estival se rapprochant des stratégies K.

L'impact de la filtration zooplanctonique (taille > 180 µm), sur la régulation démographique des peuplements bactériens a été étudié en utilisant comme source de nourriture le bactérioplancton naturel, marqué par de la ³H thymidine. La technique développée permet une détermination rapide des taux de filtration et autorise simultanément une correction pour tenir compte de l'adhésion bactérienne sur les exosquelettes des animaux. En effet, il apparaît que la fixation rapide des bactéries sur les herbivores entraîne une surestimation des taux de filtration.

Enfin, les variations nycthémérales de l'abondance et de l'activité bactériennes étudiées sur le lac Cromwell, lac acide du bouclier canadien, nous ont permis de montrer des différences jour-nuit importantes avec des maxima nocturnes tant pour l'abondance que pour l'activité métabolique. A l'occasion de cette opération nous avons pu confirmer le rôle du zooplancton sur la régulation de ces deux paramètres.

© 1988 - **Mots clés** : - Bactérioplancton - Epifluorescence - Activité hétérotrophe - Relations phytoplancton-bactérioplancton - Stratèges r et K - Broutage - cycles nycthéméraux.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
Problèmes méthodologiques liés à l'étude du bactérioplancton	
I - Dénombrements cellulaires	3
1.1 - Choix de la technique utilisée	3
II- Activité bactérienne hétérotrophe	3
2.1 - Choix de la technique utilisée	3
Présentation du site	
I - Le lac d'Aydat et son environnement	4
II- Echantillonnage	4
CHAPITRE I : METHODOLOGIE	
Etude des paramètres abiotiques	
I - Mesures physiques	6
1.1 - Energie lumineuse	6
a / Energie incidente	6
b / Répartition verticale de l'énergie	6
c / Profondeur de compensation photique	6
1.2 - Température	7
1.3 - Transparence	7
1.4 - Conductivité	7
II - Mesures chimiques	7
2.1 - Oxygène dissous	7
2.2 - pH	7
2.3 - Teneurs en éléments biogènes	7
a / Azote	7
- Ammoniaque	7
- Nitrites	8
- Nitrates	8
b / Phosphore	8
Etude des paramètres biotiques	
I - LE PHYTOPLANCTON	
1.1 - Aspect qualitatif	9
1.2 - Aspect quantitatif	9
a / Dénombrements cellulaires	9
b / Estimation de la biomasse	9
1.3 - Dosages des pigments photosynthétiques	9

1.4 - Etude des nucléotides adényliques du phytoplancton	10
1.5 - Production primaire	10

II - LE BACTERIOPLANCTON

2.1 - Abondance et biomasse	12
2.11 - Dénombrements cellulaires	12
a / Conservation des échantillons	12
b / Préparation de la colonne de filtration	13
c / Filtration	13
2.111 - Mise au point méthodologique	13
d / Traitement des échantillons	14
e / Préparation des lames	14
f / Comptage des cellules bactériennes	15
2.12 - Calcul de l'abondance cellulaire	15
2.13 - Calcul des volumes bactériens	16
2.14 - Estimation de la biomasse	16
2.2 - Activité hétérotrophe	19
2.21 - Cinétiques en fonction du temps	19
a / Assimilation	19
b / Respiration	22
Méthodologie	22
Résultats	22
a / Assimilation	22
b / Respiration	22
Discussion	26
2.22 - Cinétiques du type MICHAELIS-MENTEN	27
a / Linéarisation de LINEWEAVER-BURK	27
b / Application au milieu naturel	29
c / cas des cinétiques multiphasiques	29
2.3 Mesures des potentiels d'activité	31
2.31 - Préparation des témoins	31
2.32 - Inoculation des échantillons	31
2.33 - filtration	33
2.34 - Mesure de la radioactivité	33
2.4 - Assimilation pour une concentration unique de substrat	33
2.5 - Mesure de respiration	34

CHAPITRE I I : RESULTATS

Variations spatio-temporelles des paramètres abiotiques

I - Mesures physiques	36
1.1 - Energie lumineuse	36
a / Albédo	36
b / Profondeur de compensation photique	36
1.2 - Température	36
1.3 - Transparence	36
1.4 - Conductivité	36
II - Mesures chimiques	39
2.1 - Oxygène dissous	36
2.2 - pH	39

2.3 - Teneurs en éléments biogènes	40
a / Azote	40
- Ammoniaque	40
- Nitrites	40
- Nitrates	40
b / Phosphore	40
Conclusions sur l'étude des paramètres abiotiques	40
Evolution spatio-temporelle des paramètres biotiques	
I - LE PHYTOPLANCTON	
1.1 - Diversité spécifique et biomasse	45
1.2 - Pigments photosynthétiques	49
1.3 - Production primaire	49
Conclusions sur l'étude des paramètres phytoplanctoniques	50
II - LE BACTERIOPLANCTON	
I) Dénombrement	
1.1 - Abondance cellulaire et biomasse	51
1.2 - Concentration en particules sestoniques	58
Discussion	58
Importances relatives des biomasses bactériennes et algales à Aydat	63
II) Mesures d'activité	
2.1 - Variations des fréquences de cellules en division (FCD)	64
2.2 - Assimilation hétérotrophe	66
Résultats	66
2.21 Variabilité des échantillons	66
2.22 - Etude des valeurs de $K_m + S_n$ et temps de renouvellement du substrat (T_n)	68
2.23 - Activité hétérotrophe potentielle	68
Discussion	71
III) Activité hétérotrophe étudiée par classes de taille	
Résultats	78
3.1 - Abondance	78
3.2 - Activité hétérotrophe potentielle étudiée par classes de taille.....	80
3.3 - Indice spécifique d'activité	80
Discussion	80
IV) Activité minéralisatrice	
Résultats	86
4.1 - Etude du pourcentage de minéralisation	87
4.2 - Etude des rendements énergétiques	88
Discussion	88
Bilan de l'activité hétérotrophe bactérioplanctonique	90

CHAPITRE III

Approche des successions et des stratégies de développement au sein des communautés bactériennes	92
---	----

CHAPITRE IV

Etude du broutage de la communauté zooplanctonique de taille > 180 µm sur le bactérioplancton naturel

I - Motivation de l'étude	98
II - Matériel et méthode	99
2.1 - Prélèvements	99
2.2 - Mesures des taux de filtration	99
Résultats	101
Discussion	103

CHAPITRE V

Variations à court terme de l'abondance et de l'activité hétérotrophe du bactérioplancton d'un lac acide du bouclier canadien.

I - Matériel et méthode	105
1.1 - Présentation du site	105
1.2 - Echantillonnage	106
1.3 - Abondances et biovolumes	106
1.4 - Vitesse d'assimilation du traceur	107
Résultats	108

Etude des paramètres abiotiques

I - Mesures physiques	108
a / Température	108
b / Transparence	108
c / Conductivité	108
d / Oxygène	108
e / pH	108
f / Azote	108

Etude des paramètres biotiques

I - PHYTOPLANKTON

1.1 - Dosages des pigments photosynthétiques	111
1.2 - Production primaire	111

II - BACTERIOPLANKTON

2.1 - Abondance cellulaire et biovolume	111
2.2 - Activité	111
a / Fréquence de cellules en division	111

b / Activité hétérotrophe potentielle	111
Discussion	114
CONCLUSIONS ET OUVERTURES	117
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	121
ANNEXES	
ANNEXE I	
Revue bibliographique des diverses techniques utilisées lors des dénombrements bactériens	
I - Dénombrements indirects	136
1.1 - Par culture	136
1.2 - Par des méthodes chimiques	136
II - Dénombrements directs	136
2.1 - Par comptages cellulaires en microscopie optique	136
2.11 - Microscopie à contraste de phase	136
2.12 - Microscopie en épifluorescence	136
a / Le FITC	137
b / Le DAPI	137
c / L'acridine orange	137
d / L'eucrysine	137
2.2 - Par comptages cellulaires en microscopie à balayage	137
ANNEXE II	
Revue bibliographique des diverses techniques utilisées lors de l'étude de l'activité hétérotrophe bactérienne	
I - Mesures d'assimilation	138
1.1 - Microautoradiographie	138
1.2 - Taux d'utilisation de composés organiques	138
1.3 - Taux d'incorporation de ³ H thymidine	139
1.4 - Etude des séquences anaplerotiques	139
II - Mesures de respiration	139
ANNEXE III	
Correspondance entre les n° des sorties et les dates des prélèvements	140
ANNEXE IV	
I - Stérilisation	141
II - Coloration des filtres	141
ANNEXE V	
Evolution spatio-temporelle des paramètres abiotiques	
1 ^{ère} partie : Mesures physiques	142
2 ^{ème} partie : Mesures chimiques	144

ANNEXE VI

Evolution spatio-temporelle des paramètres biotiques

1 ^{ère} partie : Le phytoplancton	150
2 ^{ème} partie : Le bactérioplancton	152
SUMMARY	157
