

Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg. Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg.	Bruxelles Brussel	15-X-1981
53	B I O L O G I E	13

L'ETANG DE VIRELLES  
BACTERIOLOGIE DES SEDIMENTS  
I. — OBSERVATIONS GENERALES

PAR

DARTEVELLE Z. et VERHAEGEN J. P.

SOMMAIRE

1. Introduction	2
2. Physico-chimie de l'eau et des sédiments	3
2.1. L'eau	3
2.1.1. Méthodes	5
2.1.2. Résultats	6
2.1.3. Discussion	12
2.1.4. Conclusion	14
2.2. Les sédiments	15
2.2.1. Granulométrie	15
2.2.2. pH et potentiel d'oxydo-réduction	15
2.2.3. Résultats	16
2.2.4. Discussion	17
3. Biologie de l'eau et des sédiments	18
3.1. Distribution bactérienne dans les sédiments	18
3.1.1. Résultats	19
3.1.2. Comparaisons	20
3.1.3. Discussion	21
3.2. Antibiose dans les sédiments. Caractères qualitatifs	22
3.2.1. Discussion	22
3.3. Biomasse bactérienne	22
3.3.1. Biomasse d'après dénombrement sur milieu de culture	22
3.3.2. Mesure d'ATP et discussion	23
3.3.3. Conclusion	25

3.4. Activité bactérienne	26
3.5. Plancton de l'eau d'étang	26
3.5.1. Phytoplancton et Zooplancton	26
3.5.2. Bactérioplancton	28

## 1. INTRODUCTION

L'étang de Virelles est situé à l'extrémité ouest de la dépression Fagne-Famenne. Du point de vue géologique il recouvre, au nord, du terrain famennien et au sud du terrain frasnien, ceux-ci étant bien entendu recouverts d'alluvions modernes.

Du point de vue phytogéographique la Fagne de Chimay s'étend à cheval sur le Domaine médio-européen et le Domaine atlantique. Elle appartient au District mosan. C'est l'alliance du Carpinion (chênaie à charmes) qui y est dominante (GALOUX, 1975).

Le climat de Virelles est plus doux que celui de l'Ardenne mais le sol argileux favorise les gelées tardives (SYMOENS, 1957).

Le rayonnement global pour la région de Chimay-Virelles (moyenne des années 1964 à 1969) s'élève à 93.131 cal. cm<sup>-2</sup>, soit environ 113 % des valeurs obtenues à Uccle. La température moyenne vraie est de 8,3 °C (1964 à 1968). La pluviosité annuelle moyenne est de 799 mm (1968-1972) (GALOUX, 1975).

Un plan d'eau primitif très ancien a été amené à sa superficie actuelle lors de l'établissement, au XVI<sup>e</sup> siècle, d'une digue érigée à l'exutoire et destinée à alimenter les forges établies en contrebas. Cette digue a été renforcée au siècle dernier. Elle est à double vanne mais généralement une seule d'entre elles est ouverte.

La surface actuelle est de 116 ha. L'étang est bordé partiellement par une roselière qui envahit surtout la partie Sud-Ouest, celle-ci recevant notamment les sédiments arrachés à la partie Nord-Est par les vents dominants et par le courant de l'affluent principal.

La profondeur moyenne de l'eau est de 2 m avec une épaisseur de 20 à 25 cm de sédiments meubles et macroscopiquement homogènes dans les parties centrales de l'étang. Au-delà de cette profondeur la vase devient argileuse et plus compacte. Elle se poursuit jusqu'à 1 m à 1,5 m de profondeur, selon les estimations des exploitants de l'étang.

Les sédiments de roselière sont évidemment plus hétérogènes, contenant des débits végétaux variés, dont *Typha angustifolia*, *Phragmites communis* et *Scirpus lacustris*.

Situé dans un bassin d'environ 3.000 ha, cet étang est alimenté par une douzaine d'affluents dont certains sont à sec durant l'été. L'apport principal provient du Ry Nicolas qui prend sa source à près de 4 km au nord et à une altitude de 50 m supérieure à celle du lac, soit à 250 m environ.

L'extrême variabilité du débit des affluents rend difficile l'estimation du taux de renouvellement de l'eau de l'étang. Celui-ci n'est en tout cas jamais mis à sec.

Cet étang est représentatif du type eutrophe, ainsi que l'a déjà souligné MOMMAERTS en 1966. Il est ouvert au tourisme (canotage, voile, natation) ainsi qu'à la chasse au canard et à la pêche. Il reçoit des déversements sanitaires et ménagers directs de peu d'importance et pratiquement limités à la saison touristique. Il reçoit de temps à autre une fumure dans le but d'augmenter la productivité piscicole.

L'exutoire se déverse dans l'Eau Blanche. Celle-ci longe momentanément le nord de la bande calcaire du dévonien moyen et va rejoindre l'Eau Noire pour former le Viroin qui se jettera à son tour dans la Meuse.

Notre étude, de caractère principalement bactériologique, est axée sur les sédiments, qui sont le siège d'une intense activité bactérienne. Ainsi qu'on le sait, l'activité bactérienne a 3 effets principaux :

1. en tant que consommateurs de matériel organique en solution, les germes ont un rôle épurateur;
2. en tant que producteurs d'enzymes, d'acides aminés essentiels, d'oligo-éléments divers, ils constituent une source de substances primordiales pour quantité d'autres organismes; mais surtout, en concrétisant leur immense potentiel reproductif sous forme de particules bactériennes, ils sont source de nourriture pour tous les microphages;
3. leur rôle capital de « digesteurs » et « reminéralisateurs » de la matière organique, en font le maillon-clé de toute chaîne trophique.

Nous avons toutefois complété nos observations par quelques relevés, de phytoplancton et de zooplancton, qui, avec le benthos et la phragmitaie, constituent la principale source d'apport organique pour les bactéries benthiques.

L'analyse chimique de l'eau des affluents nous renseigne sur l'apport nutritif des cours d'eau, encore qu'il faille tenir compte des pluies et du ruissellement, de l'activité des poissons et des oiseaux aquatiques autant que des insectes, des rongeurs et des carnivores qui peuplent la roselière, l'aulnaie et les rives.

L'étude du biotope est complétée par l'analyse de certains caractères physico-chimiques propres aux sédiments, tels que pH, rH et granulométrie.

L'étude bactériologique porte sur la biomasse, la productivité, l'activité bactérienne et ses possibilités enzymatiques. La plupart de ces caractères seront développés dans la deuxième partie de ce travail.

Nous tenons en effet à insister sur le fait que ce travail est une première approche, très incomplète, d'une étude plus vaste et mieux étoffée qui fera l'objet de publications ultérieures.

## 2. PHYSICO-CHIMIE DE L'EAU ET DES SEDIMENTS

### 2.1. L'eau

Nous avons réuni dans une même série d'analyses mensuelles l'eau des 12 affluents et celle des 2 branches de l'exutoire, ces dernières étant repré-

sentatives de la qualité finale des eaux de l'étang, étant donné que les prélèvements se font exactement à la sortie de l'étang.

Notre analyse a porté sur la teneur en sels nutritifs représentés par les nitrates et les sulfates, les silicates, l'alcalinité et la conductivité. Le pH a été mesuré en hiver et en été et la BOD en janvier et février.

Les eaux destinées à l'analyse chimique étaient filtrées sur place sur papier Ederol n° 20 et congelées le jour même en attendant l'analyse.

La figure 1 montre de manière schématique le faciès de l'étang et la localisation des principaux cours d'eau, indiqués selon le numéro d'ordre que nous leur avons assigné.

On peut observer que les affluents sont localisés au S.-W. et au N.-E. Ceux du S.-W. (9, 10, 11 et 12) sont l'aboutissement d'un réseau complexe de petits ruisseaux et canaux de drainage des prairies, prairies dont le niveau est très bas et qui seraient facilement marécageuses. Il s'y ajoute, dans le « 10 » et surtout le « 9 », les eaux d'évacuation d'une série de maisons et de fermes. Le « 11 » est plus éloigné des habitations et le « 12 » plus encore. Ce dernier effectue une grande partie de son trajet à la limite des prairies et du « bois de Virelles ».

Les affluents du N.-E. par contre traversent surtout des forêts et certains d'entre eux y prennent même leur source. Précisons d'ailleurs qu'on ne peut parler de source proprement dite mais d'une structure typiquement

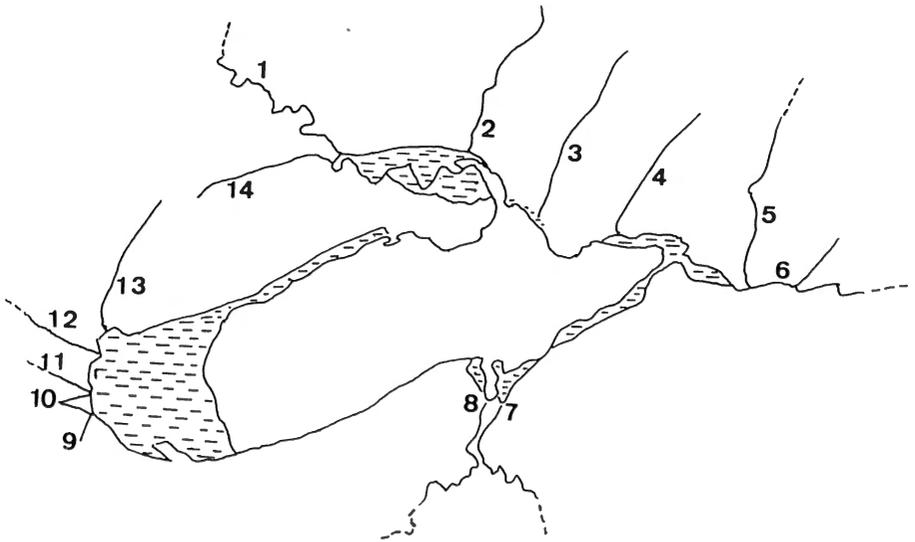


Fig. 1. — Etang de Virelles.  
Endroits de prélèvement dans les cours d'eau numérotés de 1 à 14.

fagnarde où les eaux de ruissellement s'écoulent sous le tapis d'humus et viennent former, par 2 ou 3 branches en Y ou en fourche, un petit ruisseau qui prend ainsi naissance. En l'occurrence c'est le cas du « 14 »

qui a son origine dans le « bois de Virelles » et des points 2, 3 et 4 qui ont leur origine dans la « taille du vivier ».

Le numéro 5 traverse également la « taille du vivier » mais avant d'y parvenir, il parcourt la campagne, tandis que le « 6 » traverse uniquement des pâturages.

Le Ry Nicolas (1), beaucoup plus long, a l'occasion de traverser pâturages et forêts. Il est lui aussi alimenté par plusieurs petits cours d'eau.

Les effluents (7 et 8) sont seuls à occuper la bordure S.-E. de l'étang. C'est entre eux et la grande roselière que se situe la zone récréative de l'étang.

Les résultats des analyses d'eau sont repris dans les tableaux 1 à 6.

### 2.1.1. Méthodes

#### pH

Mesures réalisées au moyen d'une électrode combinée N61, SCHOTT.

#### Eh

Mesures réalisées au moyen d'une microélectrode de platine combinée Ag/AgCl/KCl 3mol/l METROHM EA 324.

#### O<sub>2</sub>

Titration selon WINKLER au moyen de la microméthode AQUAMERCK 11 107.

#### DBO

La Demande Biologique en Oxygène est obtenue par différence entre la concentration de l'échantillon en oxygène dissous lors du prélèvement et la concentration après incubation à l'obscurité à 20 °C durant 3 ou 4 jours (DBO<sub>3</sub> ou DBO<sub>4</sub>).

#### Granulométrie

Résultats obtenus par sédimentation pour 32 à 2 μm et par tamisage au-delà de 32 μm.

#### Conductivité

Mesures effectuées au moyen d'un conductivimètre WTW LB 56 à électrode de platine.

#### Alcalinité

Obtenue par titrage à HCl 0,1 M, indicateur de OHLE.

#### Silicates et Nitrates

Déterminés par colorimétrie sur chaîne TECHNICON.

#### Sulfates

Déterminés par titrage volumétrique au Perchlorate de Baryum 0,005M. Pour plus de détails sur les méthodes, se référer à VERHAEGEN (1981).

## 2.1.2 Résultats

TABLEAU 1  
Conductivité en microsiemens

Lieu Date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
8-III-1980 ... ..	165	125	120	92	180	235	162	170	340	265	200	215	125	—
13-IV-1980 ... ..	195	405	410	148	280	330	175	165	—	—	275	265	165	95
23-V-1980 ... ..	210	440	435	260	320	350	175	185	510	—	380	310	280	180
5-VII-1980 ... ..	180	210	240	140	230	295	195	165	410	340	290	240	130	135
1-VIII-1980 ... ..	270	550	560	—	325	—	135	170	700	405	—	290	—	—
8-IX-1980 ... ..	240	530	570	—	320	340	145	160	—	490	—	260	—	—
14-XII-1980 ... ..	—	—	—	—	—	—	165	—	—	—	—	—	—	—
9-I-1981 ... ..	140	145	155	90	175	210	165	—	360	290	65	65	110	80
9-II-1981 ... ..	140	160	190	95	195	200	140	—	410	260	220	220	110	—
$\bar{x}$	192,5	320,63	335,0	137,5	253,13	280,0	161,89	169,17	455,0	341,67	238,33	233,13	153,33	122,50
s/ $\sqrt{n}$	16,37	63,35	64,07	23,05	23,21	24,14	6,40	3,52	54,57	37,07	43,18	26,62	26,64	22,41

TABLEAU 2  
Alcalinité (még./l)

Lieu Date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
8-III-1980 ... ..	0,85	0,30	0,25	0,10	0,80	1,40	0,80	0,80	2,15	2,00	1,60	1,30	0,30	0,25
13-IV-1980 ... ..	1,40	2,35	1,90	0,70	1,80	2,80	1,00	1,00	—	—	2,45	1,80	0,75	0,15
23-V-1980 ... ..	1,25	2,10	1,80	1,90	1,95	2,15	1,00	1,20	2,55	—	2,85	2,20	1,65	0,55
5-VII-1980 ... ..	0,95	0,95	0,85	0,65	1,35	2,30	1,05	0,95	3,30	2,60	2,40	1,75	0,40	0,40
1-VIII-1980 ... ..	1,65	1,65	2,05	—	2,25	—	0,90	0,90	3,65	3,05	—	2,15	—	—
8-IX-1980 ... ..	2,00	2,55	2,70	—	2,25	2,70	1,10	1,15	—	4,60	—	2,30	—	—
24-X-1980 ... ..	1,05	0,60	—	0,40	1,50	1,75	1,20	—	3,00	2,00	1,90	2,00	0,65	0,20
16-XI-1980 ... ..	0,60	0,15	0,20	0,25	0,75	1,10	—	1,80	2,00	1,40	1,15	1,05	0,25	0,20
14-XII-1980 ... ..	1,00	0,10	0,65	0,70	1,20	1,75	0,50	—	2,80	2,45	2,20	1,65	0,45	0,10
9-I-1981 ... ..	0,80	0,30	0,30	0,10	0,80	1,40	1,00	—	2,60	2,40	1,60	1,30	0,30	0,10
9-II-1981 ... ..	0,80	0,70	0,60	0,30	1,20	1,70	1,10	—	3,50	2,30	2,30	1,60	0,40	—
$\bar{x}$	1,12	1,07	1,13	0,57	1,44	1,91	0,97	1,03	2,84	2,53	2,05	1,74	0,57	0,24
$s/\sqrt{n}$	0,13	0,28	0,28	0,19	0,17	0,18	0,06	0,06	0,19	0,30	0,18	0,12	0,15	0,06

TABLEAU 3

SiO<sub>2</sub> en mg/l

Lieu Date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Σ
8-III-1980 ... ..	5,3	7,2	6,9	6,5	5,7	5,6	5,3	5,3	8,0	5,0	4,0	6,0	6,7	3,9	70,80
13-IV-1980 ... ..	1,81	4,50	5,51	3,63	2,90	6,04	4,50	4,50	—	—	3,19	3,19	4,06	1,69	52,54
23-V-1980 ... ..	2,61	7,69	5,95	3,92	3,42	4,64	4,50	4,06	8,41	—	6,96	4,64	—	4,50	64,97
5-VII-1980 ... ..	8,35	10,18	9,94	8,98	9,06	8,75	6,68	7,00	12,88	10,02	8,51	8,35	8,90	7,79	111,71
1-VIII-1980 ... ..	3,17	3,75	3,75	—	5,04	—	2,31	2,59	6,48	5,19	—	3,89	—	—	57,20
8-IX-1980 ... ..	2,07	5,04	4,18	—	3,89	4,32	0,29	0,43	—	7,78	—	2,88	—	—	58,84
24-X-1980 ... ..	6,80	8,70	—	6,50	7,50	7,50	0,20	—	10,00	7,50	6,70	6,20	4,00	0,20	77,48
16-XI-1980 ... ..	5,80	1,30	3,60	5,00	—	—	—	3,30	8,70	—	6,00	5,70	3,20	1,80	60,21
14-XII-1980 ... ..	6,40	0,20	7,20	4,40	9,20	6,70	—	—	8,30	6,80	6,00	7,10	4,20	1,80	68,30
$\bar{x}$ ... ..	4,70	5,40	5,88	5,52	5,84	6,22	3,40	3,88	8,97	7,05	5,91	5,33	5,18	3,10	69,12
s/√n ... ..	0,78	1,12	0,76	0,68	0,88	0,59	0,95	0,79	0,76	0,76	0,68	0,61	0,89	0,96	5,9

TABLEAU 4

SO<sub>4</sub> en mg/l

Lieu Date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Σ
8-III-1980 ... ..	33,6	31,2	43,2	24,0	33,6	28,8	26,4	28,8	36,0	31,2	19,3	31,2	31,2	26,4	369,70
13-IV-1980 ...	31,23	72,08	132,14	28,83	50,45	45,65	28,83	28,83	—	—	28,83	31,23	33,64	31,23	554,73
23-V-1980 ... ..	31,23	132,14	148,96	28,83	55,26	48,05	26,43	26,43	31,23	—	24,03	43,25	33,64	31,23	637,92
5-VII-1980 ...	28,83	52,86	60,06	28,83	38,44	36,04	26,43	28,83	43,25	31,23	33,64	31,23	31,23	28,83	444,47
1-VIII-1980 ...	26,29	150,46	184,43	—	63,10	—	26,68	26,69	36,40	31,55	—	29,12	—	—	668,03
8-IX-1980 ... ..	29,12	114,06	201,42	—	53,39	21,84	21,84	19,41	—	29,12	—	31,55	—	—	634,32
24-X-1980 ... ..	25,24	41,26	—	29,12	33,00	28,64	25,24	—	37,86	25,24	24,27	30,09	39,31	26,21	435,95
16-XI-1980 ...	29,12	28,64	29,12	25,72	30,05	24,75	—	26,21	33,00	25,72	24,27	28,15	31,55	27,18	237,27
14-XII-1980 ...	31,55	28,15	51,93	24,27	35,92	27,67	28,15	—	37,86	32,03	24,27	31,06	31,55	28,64	384,90
9-I-1981 ... ..	30,09	36,89	45,14	26,61	34,95	30,58	28,64	—	40,77	31,55	25,72	33,49	31,06	31,06	397,91
9-II-1981 ... ..	29,12	47,56	60,67	31,06	35,92	30,09	28,64	—	57,76	33,00	25,72	31,55	30,09	—	412,54
$\bar{x}$ ... ..	29,58	66,85	95,71	27,47	42,19	32,21	26,73	26,46	39,35	30,07	25,56	31,99	32,59	28,85	470,70
$s/\sqrt{n}$ ... ..	0,72	13,44	20,38	0,81	3,37	2,71	0,67	1,26	2,60	0,93	1,30	1,26	0,93	0,76	40,83

TABLEAU 5

NO<sub>x</sub> en mg/l

Lieu Date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Σ
8-III-1980 ... ..	4,4	1,4	1,0	0,7	3,0	3,0	1,9	2,2	32,0	9,5	3,0	4,9	1,6	—	67,07
13-IV-1980 ... ..	1,16	0,28	0,54	0,35	0,21	1,09	0,35	0,25	—	—	5,00	4,09	0,56	1,24	51,40
23-V-1980 ... ..	1,49	1,22	1,35	1,55	1,72	1,98	0,40	1,02	15,18	—	3,04	2,71	—	1,22	45,78
5-VII-1980 ... ..	6,12	0,75	1,39	0,71	1,87	0,82	1,67	2,38	34,00	19,40	1,46	5,10	1,22	2,14	74,98
1-VIII-1980 ... ..	2,52	0,39	1,00	—	1,70	—	0,90	0,37	32,30	2,31	—	5,00	—	—	55,70
8-IX-1980 ... ..	1,36	0,51	1,05	—	1,16	0,15	0,14	0,19	—	0	—	2,65	—	—	39,38
24-X-1980 ... ..	4,00	1,50	—	0,30	3,20	1,00	0,01	—	>50	3,90	1,0	3,90	1,20	2,30	>76,41
16-XI-1980 ... ..	10,0	2,80	>20	1,80	—	—	—	3,30	8,70	—	6,00	4,00	2,50	3,50	>76,64
14-XII-1980 ... ..	10,0	2,80	7	1,20	>20	3,4	3,71	—	3,90	15,0	3,70	10,0	1,50	3,50	>82,00
9-I-1981 ... ..	7,14	1,07	4,18	0,64	4,28	3,93	7,14	—	>20	>20	5,00	7,14	1,43	3,21	>78,02
9-II-1981 ... ..	6,07	1,14	3,57	0,98	3,71	2,57	4,64	—	>20	>20	3,82	5,71	1,61	3,43	>72,61
$\bar{x}$ ... ..	4,93	1,26	> 4,11	0,91	> 4,09	1,99	2,09	1,39	>24,01	>11,26	3,56	5,02	1,45	2,57	65,45
s/√n ... ..	0,98	0,26	> 1,88	0,17	> 1,81	0,44	0,75	0,47	> 4,80	> 2,98	0,55	0,63	0,19	0,35	4,45

TABLEAU 6

pH (Eh), concentration en oxygène dissous et DBO

Lieu Date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
pH (Eh)														
1-VIII-1980 ... ..	7,91	7,65	8,09	—	8,01	—	7,96	—	7,84	7,72	—	8,18	—	—
8-IX-1980 ... ..	7,64	7,71	8,08	—	7,93	7,80	7,88	—	7,84	7,60	—	7,95	—	—
	(437)	(368)	(370)	—	(374)	(374)	(379)	—	—	(383)	—	(408)	—	—
[O <sub>2</sub> ] dissous														
9-I-1981 ... ..	10,9	10,7	11,1	10	10,6	10,7	12,6	—	7,3	10,0	11,4	10,9	9	8,7
12-I-1981 ... ..	10,8	10,6	10,7	10	10,6	10,7	11,4	—	5,0	8,8	—	10,9	8,9	8,7
DBO <sub>3</sub>	0,1	0,1	0,4	0	0	0	1,2	—	2,3	1,2	—	0	0,1	0
9-II-1981 ... ..	11,7	11,2	11,3	10,7	11,5	11,5	12,0	—	8,1	8,2	10,4	10,4	10,0	9,1
13-II-1981 ... ..	10,6	10,5	10,6	9,5	10,5	9,4	9,4	—	0,5	6,6	9,3	10,4	9,1	9,0
DBO <sub>4</sub>	1,1	0,7	0,7	1,2	1,0	2,1	2,6	—	7,6	1,6	1,1	0	0,9	0,1

### 2.1.3. Discussion

Au bas des colonnes de chacun des tableaux nous avons indiqué la moyenne et l'erreur à la moyenne pour chacun des points de prélèvement.

La dernière colonne des tableaux 3, 4 et 5 indique la somme des apports mensuels en silice, nitrates et sulfates par l'ensemble des affluents. Le bas de cette colonne indique ainsi la moyenne (et l'erreur à la moyenne) de l'apport annuel à l'étang, exprimé en mg/l. Il resterait à connaître le débit des affluents pour évaluer l'apport total en sels nutritifs par ces eaux. Il va sans dire que, dans cette sommation, nous n'avons pas tenu compte des points « 7 » et « 8 » qui représentent l'eau d'étang à la sortie.

Afin d'établir ces sommations, les valeurs manquantes (cours d'eau à sec ou appareils de mesure momentanément non fonctionnels) ont été remplacés par les moyennes en ces points.

#### La conductivité (Tableau n° 1)

La conductivité, fonction de la salinité d'une eau, montre une tendance à l'augmentation dès le printemps, avec chute en juillet puis nouvelle hausse. La chute mentionnée pourrait provenir d'un phénomène de dilution car des averses diluviennes se sont déversées sur la région à cette époque de l'année. Les valeurs automnales font malheureusement défaut. Le minimum est atteint en janvier.

La conductivité atteint les valeurs les plus élevées dans l'affluent « 9 » qui est, nous le verrons plus loin, l'affluent le plus chargé en sels dissous, suivi en ce sens par le « 10 ». Les ruisseaux de forêts « 2 » et « 3 » ont également une conductivité élevée. Des valeurs assez basses et les plus constantes se retrouvent dans l'eau d'étang (7 et 8), ce qui peut dénoter l'utilisation des ions par le plancton et les microorganismes.

Sans vouloir établir la relation exacte entre la conductivité et la teneur en sels dissous, nous pouvons estimer la minéralisation des eaux comme étant faible à moyenne (RODIER, 1978).

#### L'alcalinité (Tableau n° 2)

L'alcalinité est exprimée en méq/l de bicarbonates + carbonates et hydroxydes qui sont généralement associés au calcium et au magnésium.

Ces éléments sont indispensables à la croissance phytoplanctonique.

Si on compare les résultats avec ceux obtenus dans d'autres étangs de Belgique comme par exemple Mirwart (MARLIER et WATTIEZ, 1977), Robertville (MOMMAERTS, 1966) ou Harchies (VERHAEGEN et DARTEVELLE, 1981) nous avons ici une alcalinité moyenne, qui fluctue relativement peu au cours de l'année. Il y a, encore toujours, une plus grande abondance en « 9 » et « 10 » et un minimum cette fois en « 13 » et « 14 ».

#### La teneur en silice (Tableau n° 3)

La silice, élément biogène important pour les diatomées, est la plus élevée début juillet, même dans les effluents. Il se pourrait que le lavage

des sols par les pluies abondantes ait influencé cette concentration. Les 2 mois suivants indiquent une baisse sensible. Quoiqu'encore conséquente dans les affluents, la teneur devient presque nulle dans le lac (7 et 8) au début septembre, semblant indiquer une grande consommation durant les mois d'été. Une explication plus tangible pourrait être fournie par l'étude du cycle des diatomées. L'apport le plus important provient encore une fois du « 9 », suivi de « 10 ».

#### Les sulfates (Tableau n° 4)

Les sulfates sont plus constants dans le temps que dans l'espace. La variance pour un même point est en effet très faible sauf pour les points « 2 » et « 3 ».

Nous constatons en effet un apport important et sporadique de ces deux rivières qui sont typiquement fagnardes et ne quittent pas la forêt, encore que les concentrations soient loin de ce qu'on peut rencontrer dans des terrains contenant du gypse (RODIER, 1976).

Il nous a cependant paru intéressant de remonter prélever de l'eau à l'origine des ruisseaux, ce qui fut fait le 14.12.80. Dans le « 2 », ayant en aval une concentration en sulfates de 28,15 mg/l, la source contenait 33,97 mg/l. Dans le « 3 », ayant en aval une concentration de 51,93 mg/l, nous avons retrouvé dans une branche d'origine 46,59 mg/l et dans l'autre 29,19 mg/l.

La différence provient vraisemblablement du type de sol et peut-être du sous-sol schisteux contenant éventuellement du sulfure de fer. Les résidus de minerai de fer sont très abondants dans cette zone où le fer a été exploité depuis l'époque gallo-romaine jusqu'au siècle dernier. De toute manière, il faudra vérifier l'incidence de micro-organismes sulfo-oxydants et les mécanismes physico-chimiques de l'oxydation des éventuels sulfures, ou encore la présence de sulfates dans le sol.

#### Les nitrates (Tableau n° 5)

Les nitrates, moins abondants cette fois dans les ruisseaux forestiers, sont évidemment plus concentrés dans les affluents du S.-W. Encore une fois le maximum est atteint au point « 9 » bien que la variance y soit assez grande. Le minimum est atteint dans le lac début septembre mais dès le mois de mars on enregistre une chute, et durant toute la bonne saison la concentration y reste plus faible que dans les affluents, l'anomalie du mois de juillet mise à part. Le taux s'élève à nouveau en hiver.

Comme le soulignait déjà MOMMAERTS en 1966, quoique de type eutrophe cet étang est pauvre en nitrates. La compétition y est forte et la consommation rapide. En ce sens l'apport des eaux « 9 » et « 10 » provoque un enrichissement de l'eau d'étang.

### Le pH (Tableau n° 6)

Le pH est légèrement alcalin, hiver comme été, dans le lac et les effluents, ce qui correspond à la zone de pH optimum pour le développement de la plupart des bactéries aquatiques (RHEINHEIMER, 1970).

### Le potentiel d'oxydo-réduction (Tableau n° 6)

Ce paramètre a surtout fait l'objet d'une recherche dans les sédiments (cfr 2.2.2.).

Occasionnellement il a été relevé dans quelques-unes des rivières, certaines étant à sec à l'époque. On peut remarquer que le potentiel redox est plus élevé dans le Ry Nicolas, probablement en raison de son plus grand débit.

### La concentration en oxygène dissous et la DBO (Demande Biologique d'Oxygène)

Ces paramètres ont fait l'objet de 2 analyses ponctuelles. Le principe est de déterminer la quantité d'oxygène éventuellement consommée par les germes aérobies pour assurer la décomposition, dans des conditions bien spécifiques, des matières organiques contenues dans l'eau (RODIER, 1976). En ce sens, on peut observer que des eaux hivernales, froides et à fort débit, contiennent peu de matériel organique. Les points « 9 » et « 10 » ne peuvent que faire exception. Le point « 7 » représente l'eau d'étang. Il est normal que la DBO y soit plus importante que dans les affluents, mis à part le « 9 », puisqu'il s'agit d'un étang eutrophe.

Selon SOROKIN et KADOTA (1972) on peut estimer approximativement la production microbienne (P) en connaissant la consommation d'oxygène, selon la formule :

$$P = 0,08 \times (\text{consommation } O_2 \text{ en mg/l/j}) \text{ mg C/l/j.}$$

Ceci sera développé dans la seconde partie de notre travail.

## 2.1.4. Conclusion

### Apport des rivières :

« 9 » et « 10 » apportent nitrates, silice, carbonates et bicarbonates ainsi que d'autres ions.

« 2 » et « 3 » apportent les sulfates.

« 13 » et « 14 » sont de peu d'importance du point de vue apport.

« 1 » apporte l'eau au potentiel d'oxydo-réduction le plus élevé, contribuant ainsi à l'oxygénation de l'étang.

L'étang lui-même a une eau peu minéralisée et de composition relativement constante, les sels nutritifs étant régulièrement consommés.

## 2.2. Les sédiments

### 2.2.1. Granulométrie

Les premières données granulométriques obtenues sur des sédiments prélevés au hasard en 4 endroits différents de l'étang et sur quelques cm de profondeur sont résumées dans le tableau n° 7.

Elles confirment que le sédiment de la partie « ouverte » de l'étang est fin et homogène, avec dominance d'argile. Le pourcentage d'argile s'élève en fonction de la profondeur ainsi que nous avons pu le remarquer, mais les analyses n'ont pas encore été effectuées pour les différents niveaux.

### 2.2.2. pH et potentiel d'oxydo-réduction

La mesure du potentiel redox nous fournit des données intéressantes sur la disponibilité du milieu en oxydants.

Ainsi que l'a mis en évidence BILLEN (1976) dans sa thèse, certaines restrictions s'imposent quant à l'interprétation. En pratique toutefois on peut l'utiliser avec une bonne approximation, surtout dans un but comparatif.

Nous avons effectué de nombreux essais, tel par exemple l'introduction de l'électrode par des orifices percés régulièrement sur toute la hauteur du carottier. Ce système ne nous a pas donné satisfaction, non plus que l'introduction de la sonde par le sommet du carottier, car il est impossible de ne pas introduire un tant soit peu d'air dans le sédiment lorsqu'on y enfonce l'électrode, ce qui perturbe la lecture. Finalement nous avons opté pour la technique suivante : les sédiments sont prélevés au moyen du carottier décrit par GODDEERIS (1979) lors d'une communication à la Société royale belge de Zoologie. Cet ingénieux appareil permet, par un système de compression d'air à la base, de faire monter et sortir les sédiments à l'extrémité supérieure et de recueillir ceux-ci, tranche par tranche d'épaisseur choisie, dans un récipient approprié.

Dans le cas qui nous occupe, le carottier, après avoir été enfoncé dans la vase pour récolter l'échantillon, est amené directement au laboratoire en le maintenant verticalement. Dans la partie supérieure, encore recouverte d'eau surmontant les sédiments, nous introduisons le thermomètre et les électrodes à pH et Eh. Ces instruments sont immobilisés pour toute la durée de l'opération tandis que les sédiments seront mis en mouvement en les repoussant progressivement vers le haut. Les mesures sont réalisées, dans le sédiment même, pour chaque montée de 1 cm. Le Eh est calculé en soustrayant le potentiel propre à l'électrode de référence. Le rH est alors obtenu par la formule :

$$rH = \frac{Eh \text{ absolu}}{0,0992 (272,16 + T \text{ } ^\circ\text{C})} + 2 \text{ pH.}$$

Les résultats sont présentés dans le tableau n° 8.

## 2.2.3. Résultats

TABLEAU 7

Granulométrie des sédiments (24-XII-1980)

Echantillon	% sable	% silt	% argiles	Diamètre
	63 $\mu\text{m}$	63 - 2 $\mu\text{m}$	< 2 $\mu\text{m}$	moyen ( $\mu\text{m}$ )
A ... ..	0,80	45,11	54,09	1,8
B ... ..	1,00	45,17	53,83	1,9
C ... ..	0,33	41,20	58,47	1,6
D ... ..	1,26	43,79	54,95	2,0

TABLEAU 8

Potentiel redox et rH des sédiments

	Décembre			Janvier			Février		
	pH	Eh	rH	pH	Eh	rH	pH	Eh	rH
Eau sus-jacente	7,40	403	29,3	7,20	424	29,5	7,31	411	29,0
Sédiment									
0 à - 1 cm	7,10	363	27,3	6,20	246	21,1	6,68	404	27,5
- 1 à - 2 cm	7,00	239	22,6	6,19	219	20,1	6,91	402	27,9
- 2 à - 3 cm	7,08	235	24,0	6,19	204	19,6	7,06	400	28,1
- 3 à - 4 cm	7,08	176	21,9	6,12	192	19,2	7,16	352	26,6
- 4 à - 5 cm	7,12	205	21,8	6,11	172	18,3	7,06	289	24,2
- 5 à - 6 cm	7,13	166	20,2	6,04	159	17,7	7,04	283	24,0
- 6 à - 7 cm	7,00	224	22,1	6,15	151	17,6	7,13	279	24,0
- 7 à - 8 cm	7,22	120	18,8	6,17	143	17,4	7,11	263	23,4
- 8 à - 9 cm				6,16	130	16,9	7,09	241	22,6
- 9 à - 10 cm				—	—	—	7,14	202	21,3
- 10 à - 11 cm				6,21	121	16,7	7,19	123	18,7
- 11 à - 12 cm				6,29	114	16,6	7,16	110	18,2
- 12 à - 13 cm				6,32	113	16,6			
- 13 à - 14 cm				6,34	106	16,4			
- 14 à - 15 cm				6,36	112	16,6			
- 15 à - 16 cm									
- 16 à - 17 cm									
- 17 à - 18 cm							7,05	57	16,1
- 18 à - 19 cm							7,24	55	16,4
- 19 à - 20 cm							7,20	50	16,2
- 20 à - 21 cm							7,00	40	15,4

#### 2.2.4. Discussion

Les difficultés rencontrées ne nous ont permis d'obtenir des résultats satisfaisants qu'une fois l'été terminé, si bien que nous ne disposons actuellement que de mesures hivernales. Elles nous ont toutefois permis de faire les constatations suivantes :

Dans les parties centrales de l'étang les sédiments deviennent gris entre - 10 et - 15 cm de profondeur. Ils deviennent de plus en plus argileux pour aboutir, vers - 20 cm à une texture d'argile presque compacte. Ils sont rarement tout à fait noirs, indice d'un état réduit, sauf dans la rose-lière, où la matière organique à peine décomposée, beaucoup plus abondante, donne des sédiments noirs et malodorants.

Selon RODIER (1976) les valeurs rH au-delà de 25 caractérisent une solution oxydante, entre 15 et 25 une solution aérobie, de 13 à 15 une zone de transition et en dessous de 13 un milieu réducteur.

L'examen des résultats nous indique alors que l'eau surnageante est oxydante (l'eau du lac est proche de la saturation en oxygène durant l'hiver et il n'y a pas de stratification de l'oxygène dissous et de la température, en raison de la faible profondeur) tandis que le sédiment reste aérobie sur 20 cm de profondeur, à partir desquels se trouve la zone de transition. En février toutefois nous avons constaté que le sédiment lui-même était oxydant jusque 4 cm de profondeur, ce qui peut s'expliquer par une structure très meuble à cet endroit et par le fait que le vent avait soufflé violemment durant les heures précédentes.

On considère en général que dans les eaux courantes l'aération est le plus important moyen de renouvellement de l'oxygène tandis que dans les eaux calmes la photosynthèse en est le principal agent. Nous avons pourtant pu constater que dans l'étang de Virelles la faible profondeur jointe à la grande surface exposée aux vents et très facilement agitée par les vagues, favorisent l'aération du fond.

Enfin, comme c'est l'activité aérobie hétérotrophe du sédiment qui nous intéresse à plus d'un titre, on peut considérer en première approximation que, du moins en saison froide, les bactéries exercent le maximum de leur activité dans les 20 premiers cm de sédiments de la partie « ouverte » de l'étang, tout en y consommant probablement l'oxygène au fur et à mesure des disponibilités.

Ce n'est certainement pas le cas dans les étangs profonds. Ainsi GWYNFRYN JONES (1980), dans une étude sur la microbiologie des sédiments du lac de Grasmere (U. K.) a mesuré le potentiel d'oxydo-réduction sur un transect et ce jusqu'à une profondeur de 5 cm.

Dans la zone qu'il appelle littorale, sous 3 m d'eau, le Eh atteint plus de 400 mV dans le premier cm de sédiment, tombe à 200 mV à - 1 cm, 0 mV à - 2cm et se maintient à - 300 mV dans les 3 cm suivants. Il s'agit, nous l'avons dit, d'un lac plus profond que le nôtre, mais l'auteur remarque en tout cas une plus grande turbulence des eaux peu profondes, avec une zone de sédiments oxydés plus profondes que dans le centre du lac.

### 3. BIOLOGIE DE L'EAU ET DES SEDIMENTS

#### 3.1 Distribution bactérienne

Avant d'aborder le problème de l'activité bactérienne au sein des sédiments il convenait d'estimer la distribution quantitative des germes dans cet espace.

Il est certain qu'un comptage de colonies bactériennes obtenu après inclusion et culture des germes en milieu nutritif ne donne qu'une idée incomplète de la réalité, puisqu'il n'existe pas de milieu universel permettant le développement de tous les germes.

C'est cependant la méthode que nous avons utilisée momentanément, car nous avons pu constater les désavantages d'un comptage global sur membranes filtrantes après coloration, encore que ce système soit censé donner un résultat plus proche du nombre réel de germes. Tout expérimentateur sait combien il est délicat d'identifier avec assurance chacune des petites particules de l'ordre du micron observables sur la membrane. Nous avons en outre pu vérifier combien peut être grande l'erreur introduite par les dilutions successives de l'échantillon dans de l'eau, stérile certes mais contenant inmanquablement des bactéries, mortes mais encore colorables. Celles-ci peuvent être apportées non seulement par l'eau mais par la paroi des tubes ou l'intérieur des bouchons qu'on croit de bonne foi être parfaitement lavés. Une erreur de 1 bactérie par champ microscopique à la dilution  $10^{-6}$  entraîne une estimation erronée de quelque  $10^8$  bactéries par ml dans l'évaluation globale !

L'inclusion dans un milieu nutritif, quoique donnant un résultat inférieur à la réalité, a néanmoins l'avantage de ne permettre que le développement et donc le dénombrement de germes viables, nettement capables de se reproduire activement s'ils disposent de nourriture. En outre la méthode permet une comparaison qualitative et quantitative entre les différents sites de prélèvements.

Dans un premier temps nous avons effectué des comparaisons entre les comptages sur milieu nutritif traditionnel (tryptone glucose extract agar DIFCO) préparé, soit avec de l'eau déminéralisée, soit avec de l'eau d'étang, ou encore sur un troisième milieu à base d'agar, d'extrait de levure, de glucose et d'eau interstitielle extraite du sédiment. L'incubation se fait à température ambiante.

L'eau interstitielle est jaunâtre, ce qui indique probablement la présence d'acides humiques. Elle nous a donné de moins bons résultats que la gélose à l'eau d'étang, qui fut finalement adoptée et qui permet le développement d'un plus grand nombre de bactéries pigmentées que ne le fait le milieu à l'eau déminéralisée.

Nous avons, pour commencer les comptages, prélevés des échantillons de sédiment de surface en différents endroits de l'étang. Par la suite nous avons étudié la stratification bactérienne du sédiment.

Dans un troisième temps nous avons, par la méthode du MPN (Most probable number), à la fois sur milieu liquide ordinaire et sur milieu réduit à la cystéine, déterminé la distribution respective des germes aérobies et anaérobies, tant au centre de l'étang que dans la roselière.

Nous avons fait des comparaisons entre les nombres de bactéries aérobies et anaérobies.

Quelques autres essais sont mentionnés également.

### 3.1.1. Résultats (moyenne pondérée des dénombrements)

TABLEAU 9

Nombre de germes aérobies hétérotrophes par ml de sédiment de surface,  
5 points sur une transversale de l'étang

échantillon A : $16,6.10^6$ germes/ml
échantillon B : $12,8.10^6$ germes/ml
échantillon C : $15.10^6$ germes/ml
échantillon D : $13.10^6$ germes/ml
échantillon E : $20.10^6$ germes/ml

TABLEAU 10

Nombre de germes hétérotrophes par ml de sédiment en fonction de la profondeur.  
Partie centrale de l'étang

profondeurs	novembre aérobies	décembre aérobies	décembre anaérobies
— 1 cm ...	$16,3.10^6$	$16,6.10^6$	$16 .10^6$
— 2 cm ...	$3,0.10^6$	$1,7.10^6$	$0,8.10^6$
— 3 cm ...	$1,5.10^6$	$2,4.10^6$	$0,3.10^6$
— 4 cm ...	$1,9.10^6$	$4,6.10^6$	$0,5.10^6$
— 5 cm ...	$1,5.10^6$	$2,4.10^6$	$0,8.10^6$
— 6 cm ...	$2,0.10^6$	$3,4.10^6$	$1,1.10^6$
— 7 cm ...	$3,0.10^6$	$6,1.10^6$	$1,1.10^6$
— 8 cm ...	$0,9.10^6$	$10,0.10^6$	$6,0.10^6$
— 9 cm ...	$1 .10^6$	$2,0.10^6$	$0,5.10^6$
— 10 cm ...	—	$1,7.10^6$	$1,3.10^6$
— 15 cm ...	—	$2,3.10^6$	$2,5.10^6$

TABLEAU 11

Nombre de germes hétérotrophes par ml dans les sédiments de la roselière

profondeur	aérobies	anaérobies
— 1 cm ...	15,6.10 <sup>6</sup>	3,5.10 <sup>6</sup>
— 2 cm ...	10,0.10 <sup>6</sup>	3,5.10 <sup>6</sup>
— 3 cm ...	2,5.10 <sup>6</sup>	1,4.10 <sup>6</sup>
— 4 cm ...	7,2.10 <sup>6</sup>	2,5.10 <sup>6</sup>
— 5 cm ...	10,3.10 <sup>6</sup>	2,5.10 <sup>6</sup>
— 6 cm ...	4,2.10 <sup>6</sup>	2,5.10 <sup>6</sup>
— 7 cm ...	5,1.10 <sup>6</sup>	0,8.10 <sup>6</sup>
— 15 cm ...	7,6.10 <sup>6</sup>	5,0.10 <sup>6</sup>

TABLEAU 12

Nombre de germes aérobies hétérotrophes d'un même échantillon cultivé sur différents milieux nutritifs à base d'eau distillée, solide, liquide et dépourvu de vitamines. Août.

profondeur	Tryptone glucose agar	Tryptone (MPN)	Vitamin free
— 1 cm ...	8,1.10 <sup>6</sup>	6 .10 <sup>6</sup>	4,2.10 <sup>6</sup>
— 8 cm ...	5,9.10 <sup>6</sup>	9,5.10 <sup>6</sup>	3,4.10 <sup>6</sup>
— 16 cm ...	5,4.10 <sup>6</sup>	3,5.10 <sup>6</sup>	3,6.10 <sup>6</sup>

### 3.1.2. Comparaisons

Les germes aérobies ont été repiqués sur milieux de culture pour anaérobies et vice versa, afin de vérifier l'occurrence de métabolismes facultatifs.

a) croissance d'aérobies sur milieux pour anaérobies :

En moyenne, 50 % des aérobies se sont révélés anaérobies facultatifs, avec comme extrêmes 20 % et 75 %, mais sans différence significative en fonction de la profondeur du sédiment.

b) croissance d'anaérobies sur milieux pour aérobies :

La quasi totalité des anaérobies se sont révélés aérobies facultatifs. En d'autres termes, nous n'avons pratiquement pas décelé d'anaérobies stricts sur 12 cm de profondeur de sédiment.

### 3.1.3. Discussion

Dans les sédiments de surface, la distribution des germes varie peu en fonction de l'espace, quelle que soit la saison. Elle est de l'ordre de  $10^7$  germes/ml.

Dans la profondeur des sédiments on retrouve chaque fois le même profil : un nombre environ 10 fois plus élevé à la surface ( $10^7$ /ml), ensuite une distribution du même ordre de grandeur entre - 1 cm et - 20 cm ( $10^6$ /ml). Ce chiffre est légèrement supérieur dans la roselière (quelques millions/ml).

La plupart des germes présents dans la profondeur étudiée sont des aérobies stricts ou facultatifs. Il n'y a pratiquement pas d'anaérobies stricts.

Cette observation peut utilement être mise en parallèle avec les mesures de potentiel redox. En effet celui-ci indique une zone oxydante en surface et une zone aérobie jusque 20 cm de profondeur. Nous sommes manifestement en présence de sédiments aérés, donc particulièrement propices à une bonne digestion bactérienne.

La suppression de vitamines dans le milieu de culture n'a guère affecté la croissance des germes, ce qui peut laisser supposer que la majorité d'entre eux est apte à synthétiser des vitamines. Ce point sera étudié plus en détail ultérieurement. Notons qu'en ce qui concerne l'enzymologie, une première prospection nous a fait rechercher la présence d'enzymes libres dans les sédiments, au moyen des galeries « APIZYM ». Nous avons constaté, sur 20 enzymes recherchées, la présence très nette de phosphoamidase et d'estérase lipase. A l'état de traces, de phosphatase alcaline, estérase (C4), lipase (C14), phosphatase acide et leucine arylamidase (DARTEVELLE et VLAYEN, 1980).

A titre de comparaison, citons le gradient bactérien qui a été étudié par JANOS OLAH (1973) dans 4 lacs de Hongrie, mésotrophes et eutrophes. Il trouve, en surface et par méthode d'inclusion en gélose,  $10^3$  à  $10^5$  bactéries par g de sédiment. Le nombre diminue dès le premier cm, pour tomber, à - 11 cm, entre  $10^3$  et  $10^4$ .

Ces chiffres sont largement inférieurs aux nôtres, encore qu'il ne soit pas aisé de les comparer quantitativement (expression germes/ml et germes/g). Toutefois l'écart entre les nombres totaux dépasse largement la correction due à la masse spécifique du sédiment.

Ce qui nous paraît intéressant est de comparer la stratification dans les 2 cas. Or l'auteur obtient, par comptage direct sur membrane, de  $10^7$  à  $10^9$  cellules dans le sédiment de surface, avec une diminution en fonction de la profondeur allant de  $10^6$  à  $10^8$  à - 11 cm.

Les anaérobies vont de  $10^1$  à  $10^3$  et diminuent avec la profondeur ce qui, remarque l'auteur, peut être expliqué par la haute proportion d'anaérobies facultatifs. Ceci rejoint les observations que nous avons formulées à ce propos dans le paragraphe précédent intitulé « comparaisons ».

### 3.2. Antibiose dans les sédiments

L'observation de nombreuses zones d'antibiose sur les boîtes destinées au dénombrement des bactéries a donné lieu à une étude annexe. En effet, les germes en cause ont été isolés et identifiés tandis que les résultats ont parus dans un précédent article (DARTEVELLE et VLAYEN, 1980).

Signalons simplement ici que, parmi les 55 souches isolées, nous avons identifié les germes suivants : *Bacillus cereus*, *B. cereus var. mycoïdes*, *B. pumilus*, *B.adius*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio sp.*, *Staphylococcus sp.* et 1 actinomycète.

#### 3.2.1. Discussion

Si les *Bacillus* sont fortement impliqués dans les phénomènes d'antibiose cela ne signifie pas qu'ils soient prépondérants dans les sédiments de l'étang. Nous avons, à l'époque, compté 0,5 % de *B. cereus var. mycoïdes* parmi la totalité des germes.

Dans un dénombrement ultérieur nous avons observé, sur une boîte de 125 colonies, 4 % de *Bacillus* totaux et 5,6 % d'actinomycètes. Aucune moisissure ni levure, ce qui pourrait être lié au caractère souvent légèrement alcalin du milieu sédimentaire.

### 3.3. Biomasse microbienne

#### 3.3.1. Biomasse d'après dénombrement sur milieu de culture

Pour les raisons expliquées plus haut, nos résultats ne peuvent être qu'inférieurs au nombre réel de germes. Toutefois nous avons tenté de réaliser une première estimation de la biomasse.

Des bactéries en provenance de 157 colonies différentes ont été soumises à l'observation microscopique afin d'évaluer leur volume sur le vivant.

Etant donné qu'il s'agissait toujours de bactéries en forme de batonnets nous nous sommes basés sur la formule :  $V = \pi r^2 h$ .

$$\begin{aligned} \text{Nous avons obtenu les résultats suivants :} \quad & n = 157 \\ & \bar{x} = 1,90 \\ & s = 1,26 \\ & \frac{s}{\sqrt{n}} = 0,10 \end{aligned}$$

En d'autres termes, le volume moyen des bactéries de sédiments équivaut à  $1,90 \pm 0,10 \mu\text{m}^3$ .

Ceci rejoint les valeurs données par SOROKIN et KADOTA (1972) qui estiment entre 1 et 2  $\mu\text{m}^3$  le volume des bactéries des eaux eutrophes.

En nous basant sur ce volume de 1,90  $\mu\text{m}^3$ , sur un nombre de  $16.10^6$  bactéries/ml dans le premier cm de sédiment et  $1.10^6$  bactéries/ml dans les 19 cm sous-jacents, nous obtenons un volume total de 0,7714  $\text{m}^3$  de masse bactérienne pour les 116 ha de l'étang considérés sur 20 cm de profondeur.

Ceci équivaut à 771 kg de bactéries fraîches ou 154 kg en poids sec, soit 15,4 kg de carbone organique cellulaire selon les formules de JONES (1979).

D'après la littérature, la masse réelle des bactéries pourrait être 100 à 5.000 fois supérieure à celle qui est évaluée sur les milieux de culture (BRISOU *et al.*, 1963), ou 50 à 2.000 fois supérieure (HOLM-HANSEN et BOOTH, 1966).

La différence provient non seulement de l'inaptitude qu'ont certaines d'entre elles à croître sur le milieu utilisé (encore qu'une longue expérience le considère comme le plus favorable) mais aussi de leur tendance à se fixer sur des supports comme par exemple des particules de sédiments, au moyen de fibrilles polysaccharidiques exocellulaires, d'où il est difficile de les détacher (BRISOU, 1980).

Confrontés à de telles incertitudes, il nous a semblé intéressant de comparer nos données précédentes à celles fournies par la mesure de l'ATP (Adénosine Tri Phosphate).

### 3.3.2. Mesure de l'ATP

On se base ici sur l'apparente constance de l'ATP dans les cellules vivantes, sa possibilité d'extraction et l'émission lumineuse qu'accompagne sa réaction avec la luciférine + luciférase.

Cette luminescence sera mesurée par un photomètre.

Par étalonnage on détermine la concentration en ATP, à partir de laquelle on peut calculer la biomasse cellulaire.

Plusieurs symposiums ont été consacrés à ce problème ces dernières années et la méthode commence à être largement utilisée en écologie microbienne (SOROKIN et KADOTA, 1972; KARL, 1978; JONES, 1970... etc...).

Elle présente le grand avantage de ne pas être influencée par les particules sédimentaires et les cellules mortes.

Un appareil de mesures de bioluminescence, le Biocounter 2000, a été mis à notre disposition durant 2 semaines, ce qui nous a permis de nous familiariser avec les manipulations et d'effectuer une série de mesures prospectives qui se sont révélées reproductibles et riches en renseignements. Une fois mise au point et utilisée de manière systématique et avec un esprit critique, la méthode peut certainement s'avérer très fructueuse pour la détermination des différentes fractions de la biomasse microbienne.

Les quelques résultats obtenus sont mentionnés ici à titre indicatif.

## Résultats

- a) Extraction au moyen de NRB (réactif LUMAC) qui libère l'ATP des cellules microbiennes (bactéries, protozoaires, levures, champignons et certaines algues vertes unicellulaires) contenues dans un échantillon de sédiment de surface. Moyenne des mesures :  $10,4 \cdot 10^8$  fg d'ATP/ml, ce qui correspondrait à  $10,4 \cdot 10^8$  bactéries/ml si l'échantillon ne contenait que des bactéries.
- b) Extraction au moyen de NRS qui libère l'ATP des protozoaires, à l'exclusion des bactéries, champignons, levures et diatomées. Moyenne des mesures :  $1,13 \cdot 10^8$  fg d'ATP/ml.
- c) Différence entre (a) et (b) :  $9,29 \cdot 10^8$  fg d'ATP bactérien, ce qui correspondrait à un ordre de grandeur de  $10^9$  cellules bactériennes/ml de sédiment si champignons, levures et algues vertes sont absentes.
- d) Dénombrement bactérien obtenu après inclusion en milieu nutritif gélosé sur le même échantillon que (a) : moyenne de comptages  $2,7 \cdot 10^6$  bactéries/ml.
- e) Comptage statistique (MPN) après culture en milieu liquide, toujours au départ du même sédiment : moyenne des résultats :  $6 \cdot 10^6$  bactéries/ml.

## Discussion

En raison de la rareté des champignons et levures dans nos échantillons de sédiment, il est permis de supposer que le chiffre obtenu par la mesure de l'ATP se rapporte aux bactéries et éventuellement aux algues unicellulaires. Toutefois dans le sédiment les algues sont surtout représentées par des diatomées, pour lesquelles le NRS n'extrait pas l'ATP.

Les protozoaires et les diatomées pouvant être isolées sous la loupe binoculaire, nous pourrions donc à l'avenir obtenir des informations plus précises quant à leur contenu respectif en ATP, ce qui permettra d'affiner nos méthodes et de préciser nos résultats. Ceci a déjà été fait par HOLM-HANSEN and BOOTH (1966) pour 8 espèces d'algues marines.

COLIN (1980) a pu faire la distinction entre l'ATP algal et l'ATP bactérien dans les eaux, par séparation préliminaire sur membrane, des 2 types de micro-organismes. Cette méthodologie n'est malheureusement pas applicable dans les sédiments, mais nous envisageons de soumettre nos échantillons aux ultra-sons et de les centrifuger. Antérieurement plusieurs dizaines d'expériences (non publiées) effectuées dans notre laboratoire, nous ont en effet permis de faire les constatations suivantes :

- a) Une centrifugation modérée, à 1.000 tours/min, poursuivie durant 10 min, ne modifie pas le nombre de bactéries dans la suspension.
- b) Le passage, durant 2 à 3 secondes, dans un appareil à désintégration par ultra-sons donne presque toujours un nombre de bactéries plus élevé qu'au départ. Les essais ont été pratiqués sur *Aerobacter aero-*

genes, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*. Le traitement par désintégration était réalisé sur un appareil de type MSE 150 watts d'une fréquence de 20 KHz.

L'augmentation du nombre de bactéries était d'autant plus spectaculaire s'il s'agissait de germes qui restent agglomérés en paquets ou en chaînettes comme les Staphylocoques ou les Streptocoques. Dans tous les cas le chiffre obtenu, même s'il était un peu inférieur, ne diminuait jamais d'un ordre de grandeur.

Lorsque la désintégration se poursuit pendant plusieurs minutes les bactéries disparaissent proportionnellement au temps d'exposition aux ultra-sons.

- c) Le même traitement de désintégration infligé à des amibes du type *Limax* (plusieurs milliers/ml) les tue en quelques secondes. Les kystes sont nettement plus résistants, mais après 3 minutes ils commencent à perdre leurs membranes externes et après 10 minutes ils sont complètement détruits.

Ainsi nous pouvons espérer, par une méthode combinée de désintégration et de centrifugation, éliminer les micro-organismes non bactériens de la solution. Cette méthode aura en outre l'avantage de détacher les bactéries des particules sédimentaires. Finalement l'estimation de 1 fg d'ATP par bactérie devra lui aussi être vérifié sur des cultures pures de bactéries autochtones.

### 3.3.3. Conclusions

Avant de conclure, il est intéressant de mettre en parallèle nos résultats avec ceux obtenus par MEYER-REIL et coll. (1978) quoique ceux-ci aient travaillé sur des sédiments marins.

- Le nombre et la biomasse bactérienne sont plus élevés de 3 log dans les sédiments par rapport à l'eau sus-jacente.
- La population bactérienne planctonique montre une fluctuation saisonnière, ce qui n'est pas évident dans le cas des bactéries benthiques.
- Le volume moyen d'une bactérie des sédiments étudiés par ces auteurs, est de  $0,22 \mu\text{m}^3$ , contre  $0,12 \mu\text{m}^3$  pour les bactéries de l'eau.
- Le nombre de bactéries benthiques comptées sur membrane au moyen d'un microscope à fluorescence s'élève à  $1,1 \cdot 10^9$  par  $\text{cm}^3$  de sédiment.
- La biomasse bactérienne des sédiments est de 5 g en poids sec par  $\text{m}^2$  envisagé sur 10 cm de profondeur, ce qui équivaut à 250 g de bactéries (poids humide) par  $\text{m}^3$  ou encore à 5 g de carbone par  $\text{m}^3$ .

Ces données sont comparables aux nôtres si ce n'est la biomasse. Ceci est aisément compréhensible, étant donné les dimensions des bactéries marines, inférieures à celles des eaux douces et à fortiori des sédiments (ZOBELL, 1946).

Finalement, étant donné la cohérence des informations et comparaisons qui précèdent, nous nous arrêtons à 1 ordre de grandeur de  $10^9$  bactéries par g de sédiment, ce qui correspond à une biomasse bactérienne (poids humide) de  $1.900 \text{ g/m}^2$  de sédiments considérés sur 20 cm d'épaisseur, soit encore 38 g de carbone cellulaire microbien/ $\text{m}^3$ .

### 3.4. Activité bactérienne

En réalité la biomasse bactérienne, si énorme soit-elle, n'a d'importance qu'en fonction de son activité et de son potentiel de reproduction.

Il est certain que si elle ne se renouvelait pas aussi vite qu'elle ne disparaît, elle serait rapidement engloutie par les organismes bactériophages et toute son activité de digestion et reminéralisation de la vase serait interrompue.

BILLEN (1978) spécialisé dans l'étude de l'activité bactérienne des sédiments marins, fait très justement remarquer que, dans la plupart des milieux aquatiques, l'importance quantitative de l'activité bactérienne hétérotrophe dans les cycles de la matière apparaît de plus en plus. Il ajoute que dans les sédiments, le fait que les micro-organismes eux-mêmes constituent la source alimentaire de nombreux invertébrés benthiques n'a été établi que récemment.

Le critère d'activité bactérienne est le plus souvent basé sur le taux d'absorption d'un substrat marqué ou sur la consommation d'oxygène par les bactéries.

Le taux de production est généralement estimé *in vitro* sur des cultures bactériennes, ce qui ne donne qu'une idée très imparfaite de la réalité.

Nous avons entrepris un moyen d'approche différent, en cultivant les germes *in situ* dans des membranes à dialyse. Ce point sera développé dans la deuxième partie de ce travail.

En termes d'activité spécifique, nous mentionnerons ici une première mesure de l'oxydation du thiosulfate dans les sédiments, réalisée dans le but de connaître l'ordre de grandeur de sa consommation, en prévision de recherches ultérieures, et de comparer ce type d'activité potentielle en fonction des différentes profondeurs.

Des flacons de 250 ml d'eau d'étang bouillie et aérée ont été additionnés de 10 ml de sédiments et de 25 mg de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Le thiosulfate non consommé a été titré après 5 jours.

Les résultats apparaissent dans le tableau n° 13.

Ces données, très fragmentaires, indiquent néanmoins une activité thioxydante, potentielle, relativement comparable sur 20 cm de profondeur.

### 3.5. Plancton de l'eau d'étang

#### 3.5.1. Phytoplancton et zooplancton

Une première prospection qualitative a été réalisée sur des échantillons de plancton récoltés en été et en hiver.

TABLEAU 13

Consommation de thiosulfate par 10 ml de sédiments, au mois de mars 1980.

Profondeur du sédiment	mg de thiosulfate consommé en 5 j.
eau sus-jacente	2
— 1 cm ... ..	7,3
— 3 cm ... ..	12,9
— 5 cm ... ..	8,5
— 7 cm ... ..	10,8
— 9 cm ... ..	9,9
— 11 cm ... ..	12,7
— 13 cm ... ..	13,3
— 15 cm ... ..	10,8
— 17 cm ... ..	9,5
— 19 cm ... ..	9,7

Nous avons pu y observer les organismes suivants :

<i>Actinastrum hantzschii</i>	<i>Melosira</i> sp.
<i>Anabaena flos aquae</i>	<i>Microcystis flos aquae</i>
<i>Anabaena planctonica</i>	<i>Navicula</i> sp.
<i>Anabaena spiroïdes</i>	<i>Pediastrum boryanum</i>
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	<i>Pediastrum duplex</i> var. <i>clathratum</i>
<i>Ankistrodesmus setigerus</i>	<i>Pediastrum tetras</i>
<i>Aphanizomenon flos aquae</i>	<i>Phacus longicauda</i>
<i>Asterionella gracillima</i>	<i>Phacus tortus</i>
<i>Asterionella formosa</i>	<i>Scenedesmus acuminatus</i>
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Scenedesmus quadricauda</i>
<i>Closterium aciculare</i>	<i>Staurastrum paradoxum</i>
<i>Coelastrum picroporum</i>	<i>Selenastrum</i> sp.
<i>Crucigenia triangularis</i>	<i>Synedra actinastroïdes</i>
<i>Euglena acus</i>	<i>Synedra acus</i>
<i>Euglena pisciformis</i>	<i>Synedra affinis</i>
<i>Euglena spirogyra</i>	<i>Tetraedron trigonum</i>
<i>Euglena spiroïdes</i>	<i>Trachelomonas volvocina</i>
<i>Keratococcus raphidioïdes</i>	<i>Tribonema minima</i>
<i>Kirchneriella subsolitaria</i>	<i>Acanthocyclops robustus-vernalis</i>
<i>Lyngbia</i> sp.	<i>Cyclops vicinus vicinus</i>

*Daphnia cucullata*  
*Leptodora kindtii*

*Cypridopsis vidua*  
*Physocypria kliei*

Durant l'été nous avons observé 4 fleurs d'eau dues à :

*Aphanizomenon flos aquae*  
*Tribonema minima*

*Anabaena planctonica*  
*Anabaena spiroïdes*

En hiver (janvier 1981; T° eau : 1° C), il y avait dominance des copépodes et de *Synedra acus*.

### 3.5.2. Bactérioplancton

Teneur de l'eau d'étang en germes aérobies hétérotrophes relevée en février par dénombrement sur milieu de culture : 10<sup>5</sup>/ml, soit 100 fois moins que dans le sédiment de surface.

Les microchampignons sont assez fréquents dans l'eau, ce qui nous l'avons vu, n'est pas le cas dans les sédiments.

\* \* \*

Les auteurs sont redevables à L. VAN MEEL de la détermination du phytoplancton. Ils le prient d'accepter leurs remerciements pour l'amabilité avec laquelle il a toujours accepté de partager les nombreuses connaissances accumulées pendant sa longue carrière scientifique.

Ils remercient Madame A. VERHAEGEN-DENDAL, Madame M. GOESSENS-CANON, Monsieur P. POULTIER et Monsieur R. LELORRAIN pour leur précieuse collaboration technique.

Ils expriment leur reconnaissance à Messieurs FRERE et MICHELET qui les ont aimablement autorisés à travailler sur cet étang.

### BIBLIOGRAPHIE

BILLEN, G.

1976. Etude écologique des transformations de l'azote dans les sédiments marins. — *Thèse, Université libre de Bruxelles*.

1978. La régulation de l'activité bactérienne hétérotrophe dans les milieux naturels. — *Techn. Rep. OM/1978 08*.

BRISOU, J., de RAULTIN de la ROY, Y., CURCIER, R. et CAMPELLO, F.

1963. Numérotation comparative des bactéries marines par culture et lecture directe sur membranes. — *C. R. Séances Soc. Biol.*, 47, 3, 635.

BRISOU, J.

1980. Débusquement enzymatique des bactéries fixées sur les sédiments marins. — *C. R. Acad. Sc. Paris*, 290, 1421-1424.

COLIN, F.

1980. Contribution de mesures globales de biomasse bactérienne et algale microscopique à l'étude de la dynamique des éco-systèmes aquatiques. ENV-78 02 068 45 pages, *Comité Eau, Paris*.

DARTEVELLE, Z. et VLAYEN, P.

1980. Antibiose bactérienne dans les sédiments lacustres. — *C.R. XXVII<sup>e</sup> Congrès CIESM. A l'impression*.

GALOUX, D.

1975. Le chêne pédonculé et le chêne rouvre en Fagne de Chimay. — *Thèse, Faculté des Sciences agronomiques de Gembloux*, 187 pages.

GODDEERIS, B.

1979. Een eenvoudige kernboor voor het gefractioneerd bemonsteren van het slib in ondiepe vijvers. — *P. V. S. Soc. r. zool. belg.*, séance du 17 mars 1979.

GWYNFRYN JONES, J.

1980. Some differences in the microbiology of profundal and littoral lake sediments. — *Journ. Gen. Microbiol.*, 117, 285-292.

HOLM-HANSEN, O. and BOOTH, C.

1966. The measurement of adenosine triphosphate in the ocean and its ecological significance. — *Limn. Oceanog.*, 11, 510-519.

JANOS OLAH.

1973. Bacterial gradients at the sediment-water interface of shallow lakes. — *Ann. Biol. Tibany*, 40, 219-225.

JONES, J.

1970. Studies on freshwater bacteria: effect of medium composition and method on estimates of bacterial population. — *J. appl. Bact.*, 33, 679-686.

1979. A guide to methods for estimating microbial numbers and biomass in fresh water. — *Freshwater biological association*, publication n° 39, 112 pages.

KARL, D. M.

1979. Adenosine triphosphate and guanosine triphosphate determination in intertidal sediments. — *In: Methodology for biomass determinations and microbial activities in sediments*.

MARLIER, G. et WATTIEZ, C.

1977. Les étangs de Mirwart. — *In: Productivité biologique en Belgique*. SCOPE.

MEYER-REIL, L.-A., DAWSON, R., LIEBEZEIT, G. et TIEDGE, H.

1978. Fluctuations and interactions of bacterial activity in sandy beach sediments and overlying waters. *Marine Biology*, 48, 161-171.

MOMMAERTS, J.-P.

1966. Caractérisation écologique de trois écosystèmes lacustres de haute Belgique. — *Bull. Soc. r. Bot. Belg.*, 99, 227 pages.

RHEINHEIMER, G.

1974. Aquatic microbiology. — *John Wiley and Sons*, 184 pages.

RODIER, J.

1976. L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. — *Dunod*.

SOROKIN, Y. et KADOTA, H.

1972. Techniques for the assessment of microbial production and decomposition in fresh waters. — *IBP Handbook*, n° 23, 112 pages.

SYMOENS, J.-J.

1957. Les eaux douces de l'Ardenne et des régions voisines: les milieux et leur végétation algale. — *Bull. Soc. r. Bot. Belg.* 89, 111-314.

VERHAEGEN, J.-P.

1981. Quelques aspects morphométriques et chimiques des étangs d'Harchies. — A paraître dans *Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg.*

VERHAEGEN, J.-P. et DARTEVELLE, Z.

1981. Chimie et bactériologie de l'eau des étangs d'Harchies. — En préparation.

ZO BELL, C.

1946. *Marine Microbiology*. — *Waltham, Mass*, 240 pages.