

Etude des eaux rouges dues à la prolifération des bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes dans l'étang du Prévost, lagune saumâtre méditerranéenne

P. Caumette et B. Baleux

Laboratoire d'Hydrobiologie Marine et Continentale, Université des Sciences et Techniques du Languedoc; Place Eugène Bataillon, F-34060 Montpellier Cedex, France

Abstract

Study of Red Water Due to the Proliferation of Photosynthetic Sulfide-Oxidizing Bacteria in the Lake of Prévost, a Brackish Mediterranean Lagoon

Dystrophic crises or "malaigues" with red water, were observed in summer, in Mediterranean brackish lagoons near Montpellier, France. During July 1976, the photosynthetic sulfide-oxidizing bacteria causing this phenomenon were isolated from the Prévost lagoon. The most important genera isolated from this red water were *Chromatium*, *Thiocystis* and *Thiocapsa* (Chromatiaceae): the predominant species was *Thiocapsa roseopersicina*. Water and sediment samples from the same lagoon were collected during the winter season (October 1976 and January 1977) and were enriched with organic matter. The samples were incubated in aquaria under artificial light (800 to 1000 lux) at room temperature (ca. 22 °C). Eight to 10 days later, red water developed which was similar to that observed *in situ* in summer. These red waters develop under conditions of anaerobiosis and H₂S production. Such conditions are necessary for the growth of Chromatiaceae. Excessive deposits of organic matter in the lagoon water lead to increased oxygen consumption and overproduction of hydrogen sulfide, which can be oxidized by photosynthetic sulfide-oxidizing bacteria. This bacteria "bloom" (causing the red water) removes the hydrogen sulfide, thus re-establishing aerobic conditions in the water of the Prévost lagoon.

Introduction

A la période estivale, il n'est pas rare qu'une ou plusieurs lagunes saumâtres péri-méditerranéennes de la région de Montpellier, présentent des déséquilibres biologiques et physico-chimiques intenses et brutaux qui mènent à

brève échéance à l'antéantissement complet de la faune et de la flore. Amanieu *et al.* (1975) ont étudié, sur le plan biologique et hydrologique, ce déséquilibre estival sur une des lagunes de la région: l'étang du Prévost. D'après les auteurs, ce déséquilibre s'accompagne à la fois d'une augmentation de la température, de la salinité, du taux de bicarbonates et d'une chute du pH, ainsi que de la teneur en oxygène dissous allant jusqu'à l'anoxie avec présence d'hydrogène sulfuré. Parallèlement, on observe une chute brutale des populations bactériennes hétérotrophes aérobies présentes dans les eaux. En même temps se développe dans les eaux une coloration rouge, brutale et transitoire.

Cette coloration rouge a été observée sur le pourtour méditerranéen par Forti (1933) dans les eaux de l'étang de Pergusa en Sicile, par Cerruti (1938) dans les eaux de Mar Piccolo près de Taranto et par Cviic (1955, 1960) dans deux étangs saumâtres situés dans l'île de Mljet sur l'Adriatique. Ce dernier a mis en évidence, dans les "eaux rouges", des bactéries du genre *Rhodopseudomonas*. Ces eaux rouges ont été observées et étudiées en Sicile dans l'étang du Faro par Genovese (1963) et Trüper et Genovese (1968). Ces auteurs ont isolé, à partir des eaux colorées, des bactéries appartenant aux genres *Thiopolyoccus*, *Chromatium*, *Chlorobium* et *Thiocystis*.

Sorokin et Donato (1975) ont étudié dans ce même étang du Faro le métabolisme du cycle du soufre. Devèze et Fauvel (1966) ont montré que l'apparition d'une eau rouge dans l'étang d'Ingril (Montpellier) est due à la pullulation de bactéries du genre *Rhodopseudomonas*. Enfin, de nombreux auteurs parmi lesquels Kuznetsov (1959), Schlegel et Pfennig (1961), Kriss (1963) ont isolé dans des sites aquatiques différents et à partir d'eaux riches en hydrogène sulfuré, des bactéries photosynthétiques.

L'apparition estivale de ces eaux rouges dans l'étang du Prévost, fait penser qu'il puisse s'agir d'une prolifération bactérienne massive. La mise en évidence de bactéries photosynthétiques, soit dans les eaux, soit

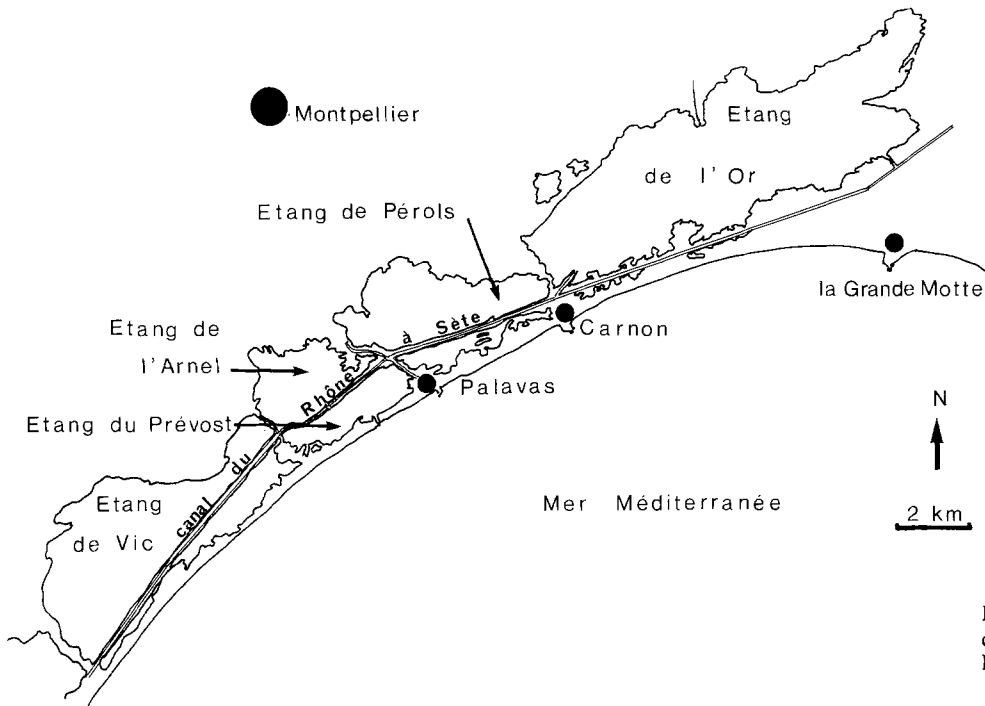


Fig. 1. Les lagunes saumâtres de la région de Montpellier, France

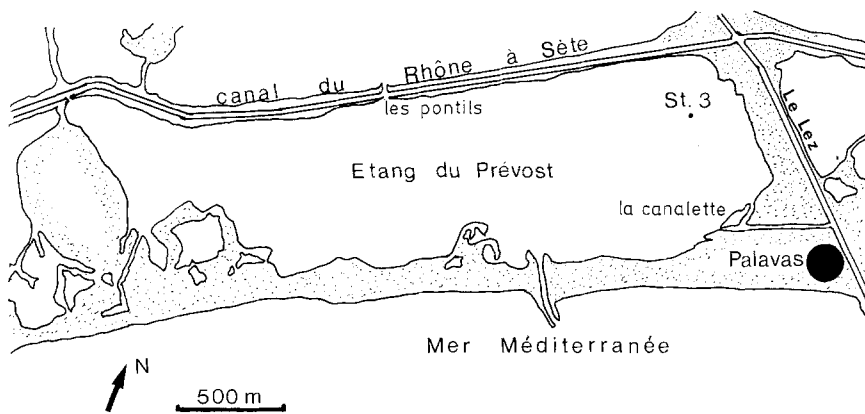


Fig. 2. L'étang du Prévost. St. 3 = station de prélèvement

dans les sédiments, aussi bien à la période estivale qu'aux autres périodes de l'année, et l'étude des facteurs qui conditionnent l'apparition de ces eaux rouges sont les buts de ce travail.

Matériel et méthodes

Lieux de prélèvements

L'étang du Prévost, d'une superficie de 380 hectares, fait partie d'un ensemble lagunaire d'eaux saumâtres, situé au sud de Montpellier dans une plaine marécageuse en bordure de la Méditerranée. Cette région lagunaire est limitée au sud-ouest par Sète et l'étang de Thau et au nord-est par le delta du Rhône (Fig. 1). L'étang du Prévost communique avec la mer par l'intermédiaire d'un grau et avec les lagunes contiguës par de petits passages ou "pontils". Il reçoit indirectement par les

eaux de l'Arnel, du canal du Rhône à Sète et de la canalette de Palavas, les affluents du Lez et de la Mosson (Fig. 2).

Dans ce travail préliminaire, les prélèvements des échantillons aussi bien aqueux que sédimentaires ont été réalisés uniquement dans une zone restreinte de la pointe nord-est de l'étang et plus particulièrement à la Station 3. Le choix de cette station de prélèvement tient au fait que c'est, en général, dans cette zone que débute le phénomène "d'eau rouge".

Milieus et techniques de cultures bactériennes

Pour l'isolement et l'identification des bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes, isolées de l'environnement aqueux, le milieu de Pfennig (1961, 1965) a été utilisé. Ce milieu se compose de quatre différentes solutions préparées séparément.

Solution 1. CaCl_2 , 0,4 g; eau distillée, 1000 ml. Répartir 80 ml de cette solution en flacons de 125 ml et stériliser à l'autoclave pendant 20 min à 120 °C. Laisser refroidir.

Solution 2. KH_2PO_4 , 2 g; KCl , 2 g; NH_4Cl , 2 g; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2 g; eau distillée, 134 ml; vitamine B_{12} , 0,12 mg. Ajouter 60 ml d'une solution d'oligo-éléments préparée de la façon suivante: EDTA , 0,5 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01 g; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,003 g; H_3BO_3 , 0,03 g; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,02 g; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,001 g; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,002 g; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,003 g; eau distillée 1000 ml.

Solution 3. NaHCO_3 , 9 g; eau distillée 1800 ml. Saturer avec CO_2 par bullage pendant 30 min. Mélanger la solution 2 (200 ml) avec la solution 3 (1800 ml) et stériliser par filtration sous pression de CO_2 . Répartir stérilement 40 ml de ce filtrat dans les flacons de 125 ml contenant déjà la Solution 1.

Solution 4. $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, 3 g; eau distillée 200 ml. Stériliser à l'autoclave à 120 °C pendant 20 min. Ajouter stérilement dans les flacons de 125 ml, 6 ml de la Solution 4.

Dans chaque flacon ainsi préparé, on ajuste le pH à 6,9 pour les Chlorobiaceae et à 7,2 pour les Chromatiaceae, avec H_2SO_4 2M stérile ou NaHCO_3 2 M stérile.

Après avoir pratiqué des dilutions sur les échantillons d'eaux et de sédiments prélevés dans l'étang du Prévost, on ensemence 1 ml de l'échantillon pur et des différentes dilutions dans le milieu de Pfennig solide. On ensemence 2 tubes gélosés de la façon suivante: chaque tube contenant un culot de 3 ml d'agar à 2% est chauffé jusqu'à liquéfaction et additionné de 7 ml de milieu de Pfennig liquide. Les ensemencements sont pratiqués très rapidement. Chaque tube est ensuite refroidi et on recouvre le milieuensemencé d'un ml environ d'un mélange de paraffine et d'huile de paraffine afin d'assurer une bonne anaérobiose. Les tubes sont incubés à 22 °C, à une intensité lumineuse de 800 à 1000 lux. Après une incubation de 8 à 15 jours, les bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes contenues dans l'échantillon forment des colonies colorées qu'il est possible de compter et d'isoler pour poursuivre l'étude en vue du diagnostic de genre et d'espèce.

Techniques pour étudier la prolifération des bactéries photosynthétiques en laboratoire

Pour pouvoir étudier les bactéries photosynthétiques des eaux et des sédiments de l'étang du Prévost en dehors de la période estivale où elles envahissent le milieu aqueux, nous avons été amenés à utiliser des méthodes d'enrichissement selon la technique de Winogradsky (1887). Pour cela nous avons utilisé, comme Winogradsky, dans une première série d'expériences, des flacons cylindriques de verre, de 150 mm de diamètre et de 700 mm de hauteur (Fig. 3). Cependant, comme il nous a semblé que dans ces colonnes de verre, l'interface eau/sédiment

était relativement restreinte, nous avons préféré utiliser par la suite des aquariums dont les dimensions (300 mm de long, 180 mm de large et 160 mm de hauteur) quadruplent l'interface eau/sédiment (Fig. 4).

Dans la première série d'expériences, 7 colonnes (1A à 7A) ont été remplies au un tiers avec de la vase du biotope (étang du Prévost, Station 3) et, au deux tiers soit avec de l'eau du même biotope, soit avec de l'eau distillée. A certaines est ajoutée de la matière organique sous forme d'oeuf entier, de jaune d'oeuf, ou de blanc d'oeuf, à d'autres sont ajoutés des sels minéraux (sulfure, sulfate) (Tableau 1). Ces colonnes sont mises à incuber à la température du laboratoire, et à la lumière naturelle (cycle nyctéméral).

Dans la deuxième série d'expériences, nous avons utilisé 8 aquariums (P1 à P8) dans lesquels nous avons fait varier certains apports tels que: matière organique, sels minéraux (sulfure, sulfate) et oxygène dissous (Tableau 2). Les aquariums ont été mis à incuber à la température du laboratoire et éclairés en continu par une rampe de 3 lampes de 60 W. Un des aquariums (P3) dont le sédiment a été enrichi en matière organique est placé à l'extérieur de façon à montrer l'influence de la température hivernale 2° à 8 °C).

Les analyses chimiques ou bactériologiques périodiques de ces différents milieux sont pratiquées avec: un pHmètre Tacussel B50, pour la mesure du pH; un oxymètre Ponselle pour la détermination du taux d'oxygène dissous; le papier-test (Hach Chemical Co.) pour évaluer la présence d'hydrogène sulfuré. La morphologie des bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes est étudiée entre lame et lamelle; leur croissance est obtenue sur milieu de Pfennig liquide (Pfennig, 1961).

Résultats

Identification des bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes isolées dans les "eaux rouges" (malaigues) de l'étang du Prévost (juillet, 1976)

Les prélèvements effectués en pleine eau ont montré, au microscope entre lame et lamelle, une pullulation de bactéries dont la morphologie fait penser à celles de la famille des Chromatiaceae. Les prélèvements, ensemencés sur milieu de Pfennig solide (Pfennig, 1961), ont affirmé la présence de bactéries photosynthétiques en grande quantité: $5 \cdot 10^6$ bactéries ml^{-1} .

Trois genres furent identifiés (selon la classification proposée par Pfennig et Trüper, 1974), dans les eaux rouges, lors de la période estivale 1976. Il s'agit, pour le premier genre: soit de cellules de 3 à 4 μm de large sur 7 à 8 μm de long, dont la suspension en milieu de Pfennig est violette; le soufre intracellulaire se présente sous l'aspect de globules répartis dans tout le cytoplasme. Il s'agit de *Chromatium buderi*: soit de cellules de 2 sur 3 μm , mobiles, dont la suspension cellulaire est rouge-brun; il s'agit dans ce cas de *C. vinosum*.

Parallèlement s'est développé un deuxième genre de colonies formées de cellules rondes de 3 à 4 μm de diamètre, mobiles, souvent en diplocoques. La suspension

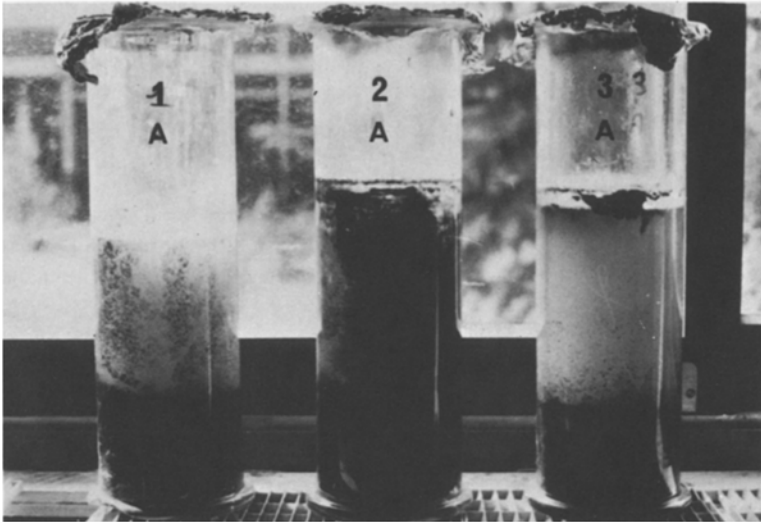


Fig. 3. Colonnes d'enrichissement selon la technique de Winogradsky (1887). 1A: matière organique (œuf), sulfure, sulfate, eau distillée; 2A: matière organique (œuf), sulfure, sulfate, eau d'étang; 3A: jaune d'œuf, sulfure, sulfate, eau distillée

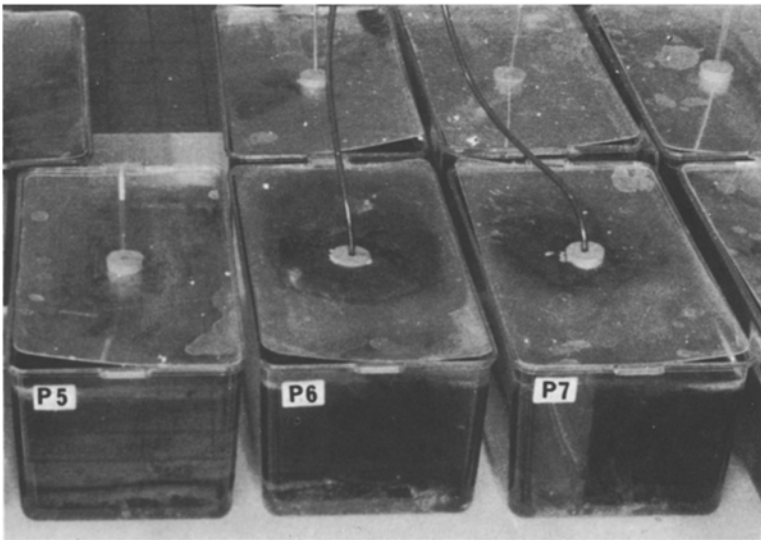


Fig. 4. Aquariums utilisés lors de l'étude des proliférations des bactéries photosynthétiques. P5: sulfure, eau d'étang; P6: matière organique, eau d'étang, oxygène; P7: eau d'étang, oxygène

cellulaire est violette et les globules de soufre sont distribués contre la paroi cellulaire: il s'agit de *Thiocystis violacea*.

Enfin, un troisième genre est formé de cellules ovoïdes de 1,5 sur 2,5 μm , non mobiles, possédant 1 à 2 globules de soufre, souvent en diplocoques ou en agrégats. La suspension cellulaire est rose vif. Il s'agit de *Thiocapsa roseopersicina*.

Evolution physico-chimique et bactériologique des eaux et des sédiments du Prévost en maquette de laboratoire [octobre, 1976; colonne de verre type Winogradsky (1887)]

Les écosystèmes recréés en colonne de verre ont été analysés pendant 51 jours. Des analyses détaillées aussi bien physico-chimiques que bactériologiques ont été pratiquées après 3, 11, 17, 30 et 51 jours d'incubation.

L'évolution du pH (Fig. 5)

La mesure du pH de l'eau au départ montre une diversité dans les valeurs: pH 7,6 à 8,2. Cette diversité peut être facilement expliquée par le fait que différents composants entrent dans la reconstitution de ces écosystèmes (matière organique, sulfate, sulfure). Le pH subit une chute dès le 3^{ème} jour; cette chute est plus importante dans les Colonnes 2A et 5A (enrichies en matière organique): neuf-dixièmes et huit-dixièmes. Par la suite, le pH augmente, et, dès le onzième jour, les valeurs sont pratiquement celles observées au départ de l'expérience. Dans les eaux des Colonnes 7A (témoin) et 2A, le pH continue d'augmenter jusqu'au 30^{ème} jour où il atteint des valeurs franchement alcalines (pH 8,7). Dans les autres colonnes, au 30^{ème} jour, le pH se maintient à des valeurs se situant entre pH 7, 8 et 8,2. A la fin de l'expérience (51^{ème} jour), le pH reste constant dans

Tableau 1. Apports organiques et minéraux dans les différentes colonnes (1A–7A). Sédiment et eau de l'étang du Prévost, Station 3. +: présence; -: absence

Colonne	Sédiment étang (500 g)	Eau étang (2 l)	Eau distillée (2 l)	Oeuf entier	Jaune d'oeuf	Blanc d'oeuf	Sulfure (0,2 g l ⁻¹)	Sulfate (1 g l ⁻¹)
1A	+	-	+	+	-	-	+	+
2A	+	+	-	+	-	-	+	+
3A	+	-	+	-	+	-	+	+
4A	+	+	-	-	+	-	+	+
5A	+	+	-	-	-	+	-	-
6A	+	+	-	-	-	-	+	-
7A	+	+	-	-	-	-	-	-

Tableau 2. Apports organiques et minéraux dans les différents aquariums (P1–P8). Sédiment et eau de l'étang du Prévost, Station 3. +: présence; -: absence

Aquarium	Sédiment étang (1500 g)	Eau étang (8 l)	Terre de jardin (1500 g)	Oeuf	Sulfure (0,2 g l ⁻¹)	Sulfate (1 g l ⁻¹)	O ₂
P1	+	+	-	-	-	-	-
P2	+	+	-	+	-	-	-
P3	+	+	-	+	-	-	-
P4	-	+	+	+	-	-	-
P5	+	+	-	-	+	-	-
P6	+	+	-	+	-	-	+
P7	+	+	-	-	-	-	+
P8	+	+	-	-	-	+	-

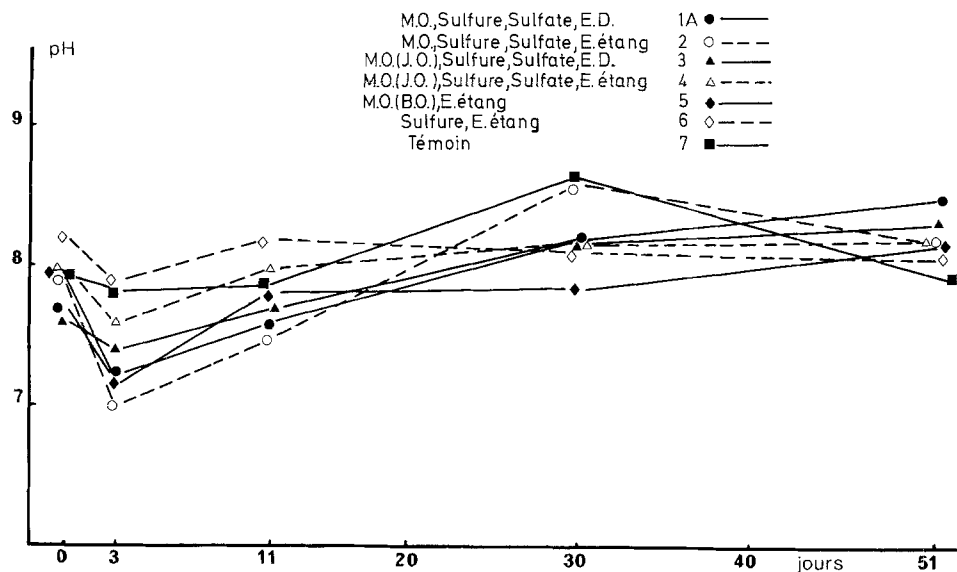


Fig. 5. Evolution du pH dans les eaux des colonnes d'enrichissement (1A–7A; octobre, 1976). M. O.: matière organique; J. O.: jaune d'oeuf; B. O.: blanc d'oeuf; E. D.: eau distillée

ces colonnes mais, par contre, diminue dans les Colonnes 7A et 2A pour atteindre des valeurs sensiblement égales au pH des colonnes précédentes (entre pH 7,5 et 8,5).

L'évolution de l'oxygène dissous (Fig. 6)

Dès le départ de l'expérience et en fonction des colonnes, la concentration en oxygène dissous est très différente (0 à 6 ppm). Dès le 3ème jour, on remarque, que, dans

toutes les colonnes, le taux d'oxygène dissous est pratiquement nul, excepté dans le témoin 7A où il atteint 14 ppm (saturation). Au 11ème jour, alors que le taux d'oxygène dissous est de 8,5 ppm dans la Colonne 6A (enrichie en sulfure) et 14 ppm dans la colonne témoin, il reste toujours nul pour les autres colonnes. Entre le 11ème et le 30ème jour, le taux d'oxygène dissous augmente dans la Colonne 3A qui contient de l'eau distillée, du jaune d'oeuf et des sulfures. Dans les autres colonnes, il reste nul jusqu'au 51ème jour, moment où il amorce une remontée discrète proche de 1,5 ppm.

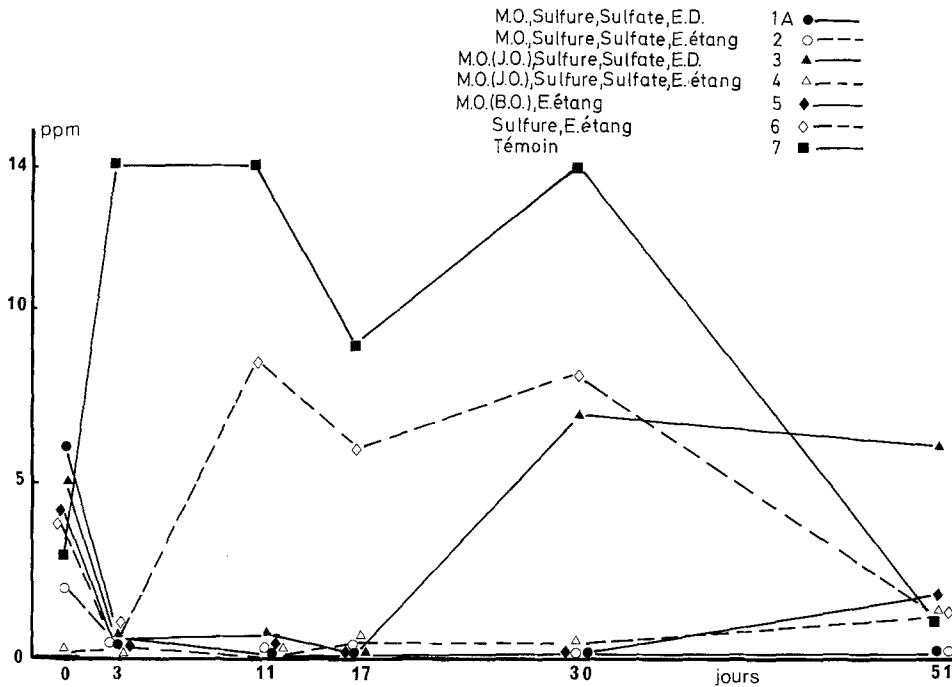


Fig. 6. Evolution du taux d'oxygène dissous dans les eaux des colonnes d'enrichissement (octobre, 1976)

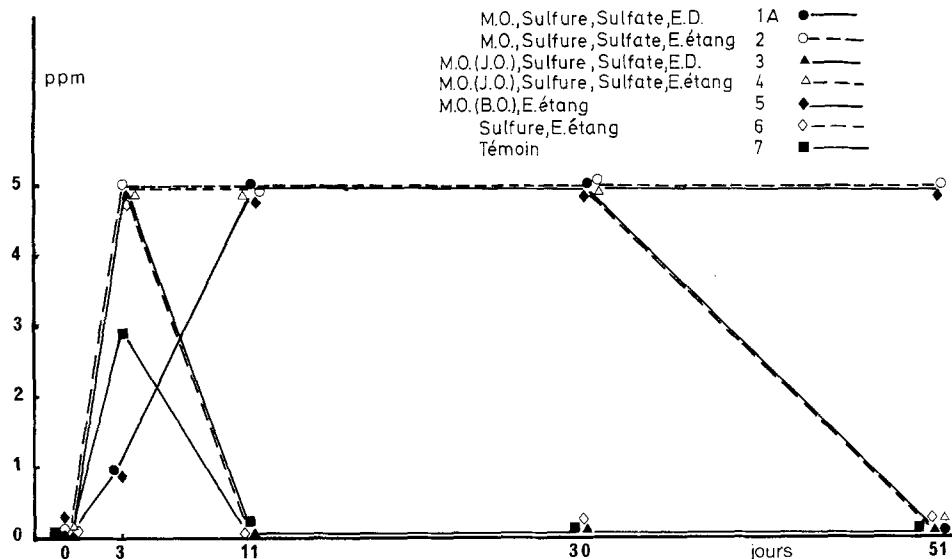


Fig. 7. Evolution du taux d'hydrogène sulfuré dans les eaux des colonnes d'enrichissement (octobre, 1976)

L'évolution de l'hydrogène sulfuré (Fig. 7)

Alors que le taux d'hydrogène sulfuré est nul au départ dans les sept colonnes, il augmente très rapidement dans 6 colonnes dès le 3ème jour pour atteindre des valeurs supérieures à 5 ppm. Ce taux se maintient à ces valeurs jusqu'à la fin de l'expérience (51 jours) pour les Colonnes 2A (enrichies en matière organique, sulfure et sulfate) et 5A (enrichie en matière organique, blanc d'oeuf). Pour les Colonnes 4A (enrichie avec du jaune d'oeuf, sulfure, sulfate) et 1A (enrichie avec de la matière organique, sulfure et sulfate et eau distillée), il demeure supérieur à 5 ppm pendant 30 jours, puis redescend à une valeur nulle entre le 30ème et le 51ème jours. Enfin, pour les Colonnes 3A (enrichie avec du jaune d'oeuf, sulfure et

sulfate) et 6A (enrichie en sulfure) le taux, supérieur à 5 ppm, ne reste à cette valeur que jusqu'au 3ème jour, puis tombe au onzième jour et reste nul jusqu'à la fin de l'expérience. Dans l'eau de la colonne témoin (7A), le taux d'hydrogène sulfuré atteint 3 ppm au 3ème jour, puis disparaît au 11ème jour et reste nul jusqu'à la fin de l'expérience.

L'évolution bactériologique

En parallèle avec l'évolution du pH, de l'oxygène dissous et de l'hydrogène sulfuré, il apparaît une "eau rouge" dans les Colonnes 2A (matière organique, sulfure, sulfate) et 5A (matière organique) dès le 7ème jour

Tableau 3. Evolution du taux d'oxygène dissous, de l'hydrogène sulfuré et de la présence des Chromatiaceae dans l'eau de la Colonne 7A (témoin) pendant un cycle nycthéral

Prélèvements dans 7A effectués à:	O ₂ (ppm)	H ₂ S (ppm)	Présence (+) de Chromatiaceae dans l'eau
8 h	0	> 5	+
10 h	0	3	+
12 h	7,2	0	-
15 h	13,6	0	-
18 h	13,4	0	-
20 h	0	0	-

d'incubation. Cette "eau rouge" se maintient jusqu'au trentième jour; puis, le milieu redevient incolore et limpide. Egalement et plus tardivement (11ème jour) est apparue une eau rouge d'intensité relativement plus faible dans la Colonne 1A. Dans ces 3 colonnes, nous avons noté une prolifération de bactéries de la famille des Chromatiaceae avec une dominante des genres *Chromatium* et *Thiospirillum* et de bactéries de la famille des Rhodospirillaceae du genre *Rhodospirillum*. Dans les autres colonnes, un trouble blanchâtre est apparu dans le milieu dès le 3ème jour. Il s'est maintenu jusqu'au 11ème jour dans la Colonne 6A (sulfure) et jusqu'au 51ème jour dans les Colonnes 3A (jaune d'oeuf, sulfure, sulfate, eau distillée) et 4A (jaune d'oeuf, sulfure, sulfate, eau d'étang).

Dans la Colonne 6A (sulfure), à la suite du trouble blanchâtre (11ème jour), ont proliféré des algues unicellulaires et filamenteuses, alors que, dans la colonne témoin (7A) ces algues se développent dès le 7ème jour. Elles prolifèrent pour donner une eau verte formée de diatomées et d'algues filamenteuses. La présence de ces algues et la formation d'oxygène dissous qui en découle, nous ont incités à suivre pendant 12 h, l'évolution d'une part, du taux d'O₂ dissous, et d'autre part, la teneur en hydrogène sulfuré dans l'eau de la colonne témoin (7A) (Tableau 3). Alors qu'à 8 h du matin le taux d'oxygène dissous est nul et celui de l'hydrogène sulfuré supérieur à 5 ppm, à 15 h il y a une inversion, c'est à dire une saturation en oxygène dissous et une absence d'hydrogène sulfuré. A 20 h le taux d'oxygène dissous est à nouveau nul ainsi que celui de l'hydrogène sulfuré. Lorsque le taux d'oxygène dissous est nul et que *de facto* le taux d'hydrogène sulfuré est positif, on note la présence de bactéries de la famille des Chromatiaceae dans l'eau de la Colonne 7A.

Evolution physico-chimique et bactériologique des eaux et des sédiments du Prévost en maquette de laboratoire (janvier, 1977, aquariums)

De la même façon que dans l'expérience précédente, des analyses physico-chimiques et bactériologiques ont été pratiquées périodiquement dans les eaux des aquariums pendant une période d'incubation de 49 jours (1, 4, 6, 8, 18, 29, 49ème jours).

L'évolution du pH (Fig. 8)

Au départ, dans les différents aquariums la mesure du pH de l'eau varie de pH 7,5 à 8,2. Au 4ème jour d'incubation, le pH diminue dans la plupart des aquariums, excepté dans P6 (matière organique, oxygène), P7 (oxygène), P8 (sulfate), où il augmente légèrement. Au 8ème jour, le pH, toujours alcalin dans les Aquariums P7 et P8 (pH 8,4 à pH 8,8), baisse légèrement dans l'aquarium P6. Dans les autres aquariums, le pH reste bas et atteint même les valeurs les plus basses: 7,1 pour P1 (témoin), 7,0 pour P2 (matière organique), 6,4 pour P4 (terre de jardin et matière organique) et 7,0 pour P5 (sulfures). Dans ces derniers, le pH remonte lentement après le 8ème jour pour atteindre des valeurs comprises entre 7,2 et 7,5 le 29ème jour. Par contre, il est toujours plus élevé mais stable dans les Aquariums P6 et P8 où les valeurs sont respectivement de 8,1 et 7,8 le 29ème jour. Dans l'Aquarium P7, le pH demeure alcalin pendant toute la durée de l'expérience. Après le 29ème jour et jusqu'à la fin de l'expérience, le pH se stabilise entre pH 7,1 et 7,2 dans les Aquariums P4 et P5 tandis qu'il continue d'augmenter dans les aquariums P1, P2 et P3 pour arriver à des valeurs respectivement de pH 7,8, 7,9 et 7,7. Dans les Aquariums P6, P7 et P8, le pH demeure alcalin jusqu'à la fin de l'expérience.

L'évolution de l'oxygène dissous (Fig. 9)

Au départ, le taux d'oxygène dissous est le même dans tous les aquariums: 7 ppm. Dès le premier jour, l'oxygène dissous diminue jusqu'à des valeurs pratiquement nulles dans tous les aquariums, sauf dans P6 (matière organique et oxygène) et P7 (oxygène) où il est respectivement de 1 et 3,5 ppm. Ensuite, le 4ème jour pour P7 et le 8ème jour pour P6, il remonte et se stabilise entre 6 et 7 ppm. Il reste stable autour de ces valeurs jusqu'à la fin de l'expérience. Dans les autres aquariums, le taux d'oxygène dissous de l'eau reste nul jusqu'au 8ème jour. Entre le 8ème et le 18ème jour, le taux d'oxygène dissous de P8 (sulfate) passe à 4 ppm et demeure à cette valeur jusqu'à la fin de l'expérience. En dehors des Aquariums P3 et P5 où le taux d'oxygène dissous augmente à partir du 18ème jour jusqu'à des valeurs voisines de 4 ppm, dans les autres aquariums, cette augmentation est plus discrète et le taux d'oxygène dissous en fin d'expérience est de 1,5 ppm.

L'évolution de l'hydrogène sulfuré (Fig. 10)

Nul au départ, le taux de l'hydrogène sulfuré devient supérieur à 5 ppm entre le 1er et le 4ème jours dans les eaux des Aquariums P1 (témoin), P2 (matière organique), P3 (matière organique, température froide), P4 (matière organique, terre de jardin), P5 (sulfures) et P8 (sulfate). Ce taux restera constant jusqu'à la fin de l'expérience dans l'eau de l'Aquarium P4. Dans l'eau de l'Aquarium P2, il demeure supérieur à 5 ppm pendant 18 jours puis

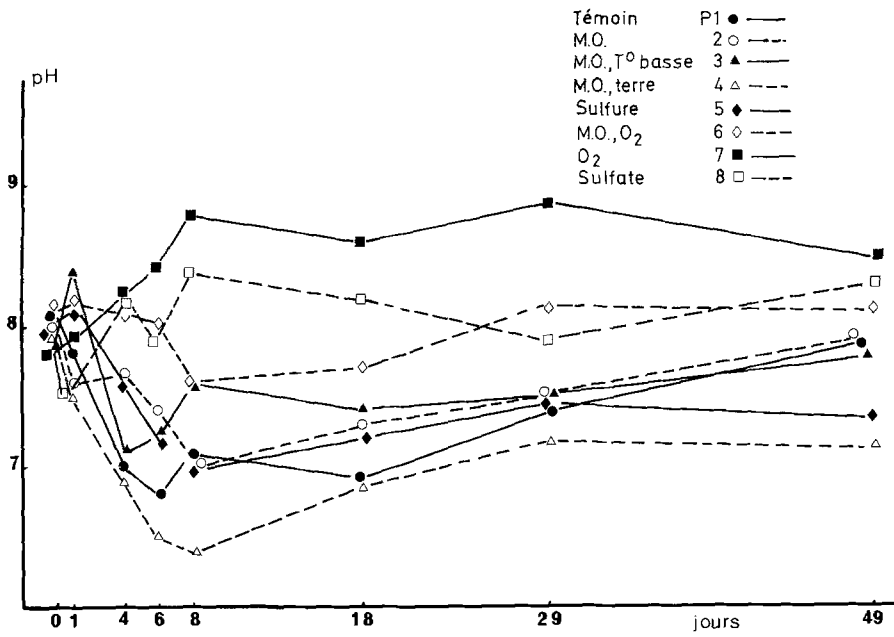


Fig. 8. Evolution du pH dans les eaux des aquariums (janvier, 1977). T° basse: température froide; Terre: terre de jardin

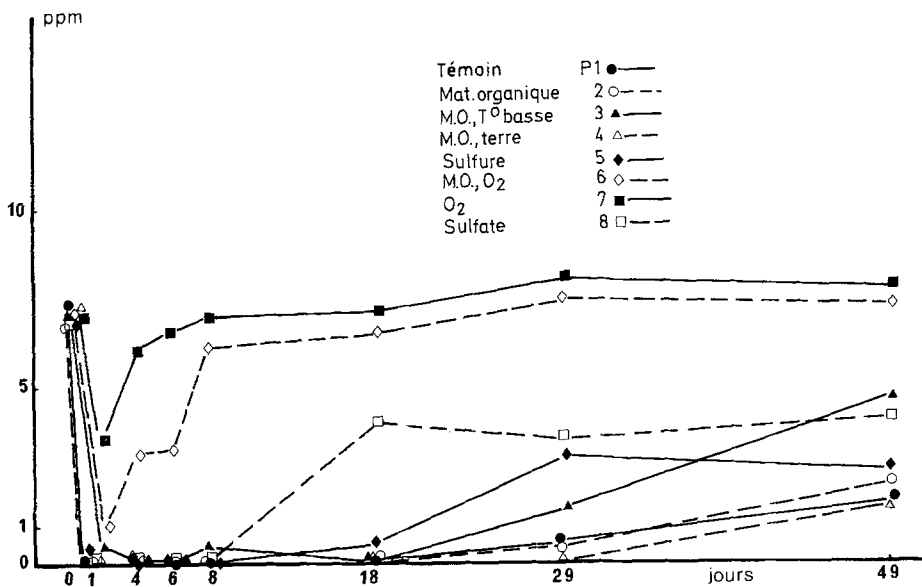


Fig. 9. Evolution du taux d'oxygène dissous dans les eaux des aquariums (janvier, 1977)

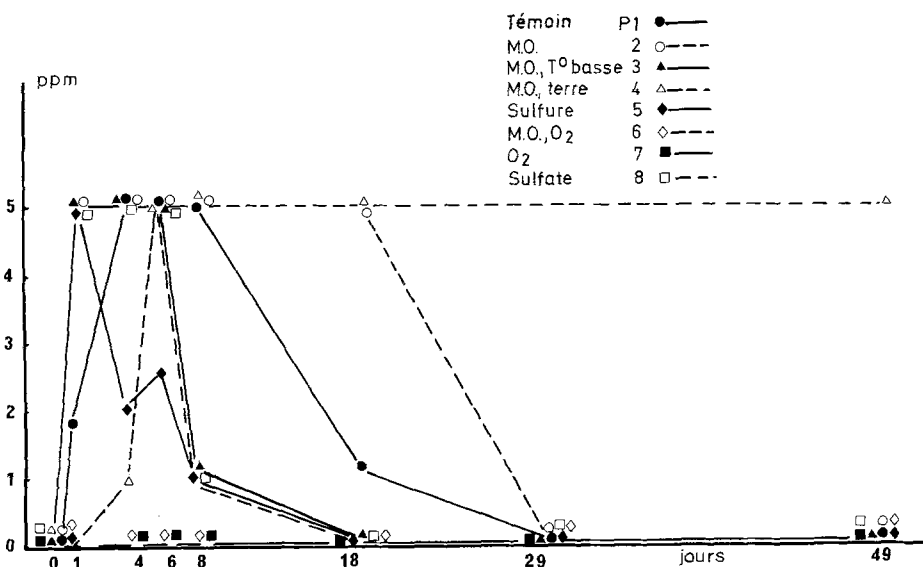
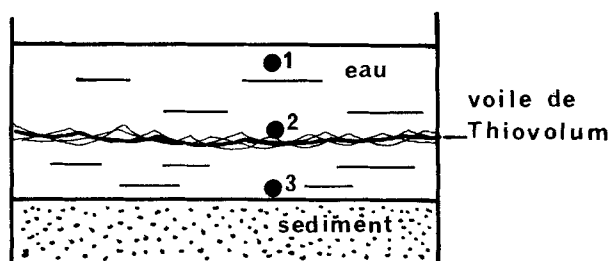


Fig. 10. Evolution du taux d'hydrogène sulfuré dans les eaux des aquariums (janvier, 1977)



	O ₂ ppm	H ₂ S ppm
1	1,5	0,1
2	0	2
3	0	>5

Fig. 11. Position du voile bactérien (*Thiovolum*) formé après 6 jours d'incubation (22°C) dans l'aquarium P8 (sulfate). Noter la position des bactéries à l'interface de deux "types d'eau" (milieu oxydé, milieu réduit). Les concentrations en oxygène dissous et en hydrogène sulfuré sont données aux 3 niveaux

redescend à une valeur nulle entre le 18ème et le 29ème jour et s'y maintient jusqu'à la fin de l'expérience.

Dans l'Aquarium P1 (témoin), il reste supérieur à 5 ppm jusqu'au 8ème jour, puis tombe à 1 ppm au 18ème jour, pour redevenir nul au 29ème jour et le rester jusqu'à la fin de l'expérience.

Dans l'Aquarium P3, le taux de l'hydrogène sulfuré, supérieur à 5 ppm pendant les 6 premiers jours, s'effondre le 8ème jour pour devenir nul au 18ème jour. Les évolutions du taux d'hydrogène sulfuré dans les Aquariums P5 et P8 sont assez comparables, mais déplacées dans le temps: le taux supérieur à 5 ppm décroît au 8ème jour et devient nul au 18ème jour.

Pour les Aquariums P6 (matière organique, oxygène) et P7 (oxygène dissous), le taux de l'hydrogène sulfuré reste nul pendant toute la durée de l'expérience.

L'évolution bactériologique

Dans les Aquariums P1 et P5, après 6 jours d'incubation, apparaît une "eau rouge". Celle-ci se maintient jusqu'au 18ème jour, puis sa couleur s'atténue et le milieu devient incolore et limpide au bout de 29 jours, tandis que les sédiments sous-jacents demeurent rouges jusqu'à la fin de l'expérience. A partir du 18ème jour, une eau rouge d'intensité plus faible apparaît dans l'Aquarium P4 (terre de jardin, matière organique). Dans ces 3 aquariums, on note une prolifération de bactéries photosynthétiques appartenant à la famille des Chromatiaceae avec une dominance des genres *Chromatium*, *Thiocapsa* et *Thiospirillum*.

Dans les autres aquariums, les eaux deviennent blanchâtres et opaques du 4ème au 18ème jour. Ensuite,

l'opalescence de ces eaux diminue et, parallèlement, dans le sédiment, apparaissent des zones rouges et vertes formées par des pullulations ponctuelles de bactéries appartenant aux familles des Chromatiaceae et des Chlorobiaceae.

Dans les aquariums aérés (P6 et P7) les eaux restent claires pendant toute la durée de l'expérience, mais, à la surface du sédiment de l'Aquarium P6, apparaît, après 18 jours, une pellicule rougeâtre formée de bactéries photosynthétiques de la famille des Chromatiaceae.

En général, après 20 jours d'incubation, des algues filamenteuses envahissent l'eau des aquariums où il n'y a pas eu apparition "d'eau rouge".

Dans l'Aquarium P8 (sulfate), après 6 jours d'incubation, apparaît un voile blanchâtre formé par des bactéries appartenant au genre *Thiovolum*. L'aspect particulier de ce voile et sa position "entre deux eaux" nous ont amenés à mesurer les gaz dissous dans l'eau de l'aquarium à différentes profondeurs (Fig. 11). Dans la zone superficielle, le taux d'oxygène dissous est de 1,5 ppm alors que le taux d'hydrogène sulfuré est de 0,1 ppm. Par contre, le taux d'hydrogène sulfuré augmente en fonction de la profondeur: 2 ppm au niveau du voile de *Thiovolum* et plus de 5 ppm en profondeur (près du sédiment). Parallèlement, le taux d'oxygène dissous est nul dès le prélèvement 2 (voile de *Thiovolum*) et reste nul en profondeur.

Discussion

Pendant la crise dystrophique survenue dans l'étang du Prévost en juillet 1976, alors que les eaux devenaient rapidement et totalement anoxiques, une coloration apparut, qui évolua du rose-rouge au rouge pourpre. Ces "eaux rouges" s'accompagnèrent d'une pullulation de bactéries photosynthétiques de la famille des Chromatiaceae, bactéries qui oxydent en anaérobiose les sulfures en soufre et sulfates. La pullulation de ces bactéries photosynthétiques ne peut apparaître dans l'eau que si le taux d'oxygène dissous est nul (phase anoxique) et si le taux des sulfures—sous forme d'hydrogène sulfuré—est à un niveau suffisant (supérieur à 5 ppm). Ces conditions se trouvaient réunies lors de la "malaigue" de juillet 1976.

L'identification des trois genres isolés: *Chromatium*, *Thiocystis* et *Thiocapsa* est basée sur la morphologie (dimensions, présence de globules de soufre intracellulaire, absence de vacuole), sur la mobilité et sur la couleur de la suspension cellulaire due aux pigments intracellulaires. Cette identification bactérienne, pour être totale, doit porter sur l'étude et la caractérisation des pigments intracellulaires. Cette étude sera poursuivie dans un avenir très proche à partir des souches conservées en milieu de Pfennig liquide.

Les 3 genres bactériens isolés lors de la "malaigue" de juillet 1976 donnent à l'eau ou au milieu de culture une coloration allant du rose au rouge, par suite de la présence de caroténoïdes dans leur cytoplasme. Par contre, il n'a pas été isolé—à partir des prélèvements de juillet

1976—de bactéries phototrophes du genre *Chlorobiaceae*, dont la présence en masse, dans une eau ou un milieu de culture, confère à ces derniers une coloration vert-tendre.

L'explication de l'absence de ce genre peut se trouver dans la valeur du taux de l'hydrogène sulfuré. En effet, alors qu'une quantité d'hydrogène sulfuré trop importante est un facteur limitant pour la croissance des *Chromatiaceae*, celle-ci est nécessaire pour le développement des *Chlorobiaceae* (Pfennig, 1975).

Les genres isolés se sont multipliés et ont donné des cultures positives sur des milieux synthétiques préparés aussi bien avec 3% de chlorure de sodium qu'avec de l'eau distillée.

L'inféodation au milieu lagunaire (milieu saumâtre) n'est donc pas absolue et l'origine extra-lagunaire et dulçaquicole peut très bien être envisagée. Cependant, la prolifération dans la lagune est sous la dépendance stricte des conditions physico-chimiques bien définies telles qu'une augmentation de la température, une chute de pH, de la teneur en oxygène dissous allant jusqu'à l'anoxie avec présence d'hydrogène sulfuré.

D'une manière générale, les germes identifiés possèdent tous des globules de soufre intracellulaire et sont de taille moyenne, exception faite pour *Chromatium buderi*. Un genre domine les autres: *Thiocapsa roseopersicina*, dominante décrite également par Matheron et Baulaigue, (1976) dans des sédiments marins du golfe de Marseille.

Si ces 3 genres bactériens photosynthétiques ont proliféré, on peut penser qu'ils étaient déjà présents dans les eaux ou dans les sédiments protégés dans des zones anoxiques et qu'ils n'attendaient qu'une phase anoxique pour envahir tout l'écosystème, ainsi que le démontra Kaiser (1966). C'est pour mieux comprendre le phénomène de prolifération de ces bactéries photosynthétiques que nous avons tenté de recréer, très imparfaitement dans des maquettes de laboratoire, des écosystèmes à partir de sédiments et d'eaux de la lagune étudiée. Sur ces maquettes, il nous était alors relativement facile de faire varier les paramètres physico-chimiques et les apports en matière organique.

Ainsi des sédiments et de l'eau prélevés dans l'étang du Prévost au mois d'octobre 1976 et différemment enrichis en matière organique, ont été incubés selon la méthode de Winogradsky (1887) à une température constante de 20° à 22°C. Au bout de temps d'incubation variables, les bactéries photosynthétiques appartenant aux genres *Chromatium*, *Thiospirillum*, *Rhodospirillum* se sont développées. Il faut admettre alors que ces genres existent et sont présents dans le sédiment ou l'eau à d'autres périodes qu'à celle de la "malaigne".

D'autre part, les meilleures conditions de développement de ces bactéries photosynthétiques sont réunies dans les Colonnes 1A, 2A et 5A où l'apport en matière organique, notamment sous forme de blanc d'oeuf, est important.

Enfin, l'apparition des *Chromatiaceae* est plus rapide dans le cas où la colonne est remplie avec de l'eau de l'étang (Colonne 2A) que dans celui où elle est remplie avec de l'eau distillée (Colonne 1A). Cependant, dans les

deux cas, il y a multiplication de ces bactéries. On peut donc penser que, dans le sédiment étudié, sont présentes des bactéries photosynthétiques capables de se développer à différentes salinités. Ces bactéries peuvent appartenir soit à une seule variété qui se développe quel que soit le degré de salinité, soit à plusieurs variétés les unes typiques des milieux salés et qui ne se développent qu'en présence de chlorure de sodium, les autres apportées dans la lagune par ruissellements et qui se multiplient en milieu non salé.

Le seul enrichissement du milieu en matière organique est suffisant pour obtenir la prolifération de *Chromatiaceae* (Colonne 5A) sans qu'il soit besoin d'un apport substantiel en sulfures ou sulfates (1A et 2A). Par contre, l'apport seul de soufre n'active pas le développement (6A). Il semble donc qu'un meilleur développement soit obtenu par l'apport d'hydrogène sulfuré naissant—créé par la fermentation de la matière organique—plutôt que par celui de soufre de sodium. En dehors de tout autre apport extérieur et sous éclairage naturel (jour et nuit), la seule augmentation de la température crée une compétition entre la prolifération des bactéries photosynthétiques et la prolifération d'algues filamenteuses ou unicellulaires. Cette dualité dans la prolifération entraîne un équilibre entre les gaz dissous (Tableau 3). Dans la journée, quand les algues fournissent de l'oxygène au milieu, les *Chromatiaceae* disparaissent de l'eau et se concentrent dans le sédiment anaérobie. Pendant l'obscurité, lorsque la photosynthèse algale s'arrête, l'hydrogène sulfuré dû à la fermentation naturelle du sédiment envahit le milieu aqueux et les *Chromatiaceae* réapparaissent dans l'eau. Cette compétition permet de penser que les *Chromatiaceae* ne sont pas détruites par la présence d'oxygène dissous mais que, bloquées dans leur métabolisme, elles peuvent résister pendant un temps plus ou moins long à une concentration partielle d'oxygène dissous.

Après une prolifération de bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes, l'hydrogène sulfuré est oxydé et disparaît du milieu. Cela devrait donc avoir pour conséquence la réoxygénation de l'eau des colonnes. Mais, expérimentalement, nous nous sommes aperçu que les colonnes de verre n'offraient qu'une interface air/eau trop réduite et c'est la raison pour laquelle nous avons utilisé une deuxième technique—celle des aquariums—qui permet de meilleurs échanges eau/air et eau/sédiment.

Le facteur température est très important dans l'apparition de la prolifération des *Chromatiaceae*. Par exemple, dans les Aquariums P2, P4, et P5 (enrichis en matière organique ou en soufre) les sédiments et les eaux hivernaux réchauffés permettent la prolifération des *Chromatiaceae* et l'apparition d'une "eau rouge". Par contre, dans un aquarium enrichi de la même façon que P2, mais non réchauffé et exposé aux conditions climatiques hivernales, il n'y a pas de développement des *Chromatiaceae* et a fortiori pas d'apparition "d'eau rouge".

Pendant la période où les eaux sont oxygénées, on peut penser que les *Chromatiaceae* se trouvent unique-

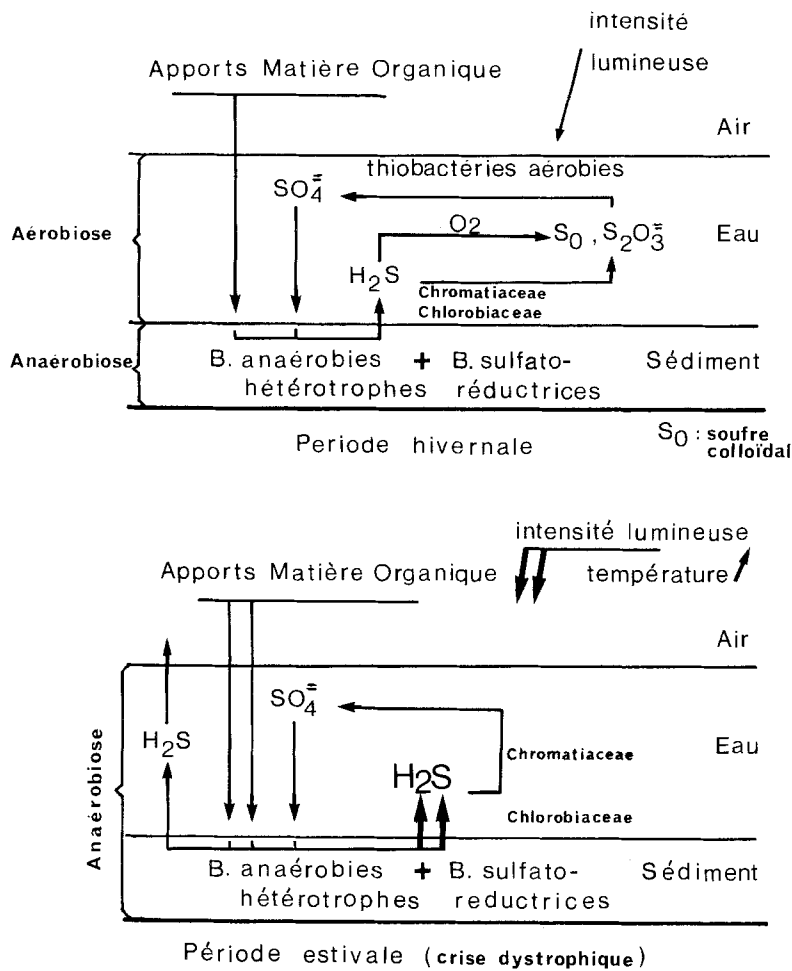


Fig. 12. Interprétation du rôle bactérien (B) dans le cycle du soufre en fonction des saisons et dans l'étang du Prévost

ment dans le sédiment, refuge anaérobie. Mais l'obtention d'une "eau rouge" à Chromatiaceae dans l'Aquarium P4 prouve que ces bactéries sont aussi présentes dans une eau aérée.

En effet, dans l'Aquarium P4, le sédiment est remplacé par de la terre de jardin stérile et la seule origine possible des Chromatiaceae ne peut être que l'eau de l'étang prélevée en janvier 1977. La résistance des Chromatiaceae à une concentration partielle d'oxygène dissous est par conséquent très élevée et la dénomination de bactéries strictement anaérobies est peut être un peu trop excessive.

Les aquariums dans lesquels la fermentation de la matière organique et la production de l'hydrogène sulfuré sont importantes, de même que le développement de "l'eau rouge", voient leurs eaux réoxygénées après 18 à 29 jours d'incubation. Les bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes ont donc permis de réaliser une reminéralisation de l'hydrogène sulfuré et une réoxygénation du milieu, de la même façon que l'action directe de l'oxygène (P6 et P7).

Dans le cas du seul ajout de sulfate dans le milieu, un phénomène particulier a été remarqué (Fig. 11). Il s'agit d'une prolifération bactérienne du genre *Thio-volum* sous la forme d'un voile installé à l'interface eaux oxydées/eaux réduites. Ce voile a joué le même rôle

qu'une "eau rouge" à Chromatiaceae et a permis une réoxygénation de l'eau à partir du 29ème jour d'incubation.

Conclusion

Les résultats obtenus expérimentalement en maquette de laboratoire permettent d'affirmer que des bactéries de la famille des Chromatiaceae se rencontrent en permanence dans les sédiments et les eaux de l'étang du Prévost où elles forment, au sein du milieu réduit et hors des crises dystrophiques, des niches écologiques restreintes basées sur l'oxydation des composés réduits du soufre. Il suffit alors d'un apport de matière organique entraînant lors de sa putréfaction une production d'hydrogène sulfuré pour que l'anoxie se crée dans les eaux permettant ainsi un développement massif des Chromatiaceae.

Le même phénomène se produit en milieu naturel; mais, pour obtenir une pullulation de Chromatiaceae dans les eaux, il faut que soient réunies les conditions propres à leur métabolisme: anoxie totale, présence d'hydrogène sulfuré, température comprise entre 25° et 30°C.

A la saison estivale, cette température de l'eau est couramment atteinte. Par contre, l'anoxie complète et

la présence d'hydrogène sulfuré impliquent une forte fermentation de la lagune à partir des sédiments où se concentre la matière organique. Cette anoxie peut être rapide car les eaux de l'étang du Prévost ne sont pas profondes (un mètre en moyenne). En quelques jours de stagnation, s'installe l'anaérobiose totale qui permet la pullulation des Chromatiaceae dans un milieu riche en hydrogène sulfuré.

De telles conditions n'apparaissent pas à l'optimum d'équilibre de la lagune saumâtre, mais, bien au contraire, lors de périodes de crises. Pour atteindre de telles conditions la lagune doit subir d'importantes variations dans ses populations animales et végétales.

Au printemps, d'une manière générale, se développe un "bloom" algal très intense qui envahit toute la lagune. Ces algues macrophytes du genre *ulva* prolifèrent et s'étalent à la surface des eaux, jusqu'à la fin du mois de juin. Début juillet, la mortalité des algues devient spectaculaire. Accumulées sur le fond, à la surface des sédiments, elles sont dégradées par putréfaction en produisant de l'hydrogène sulfuré. Ce gaz sera pendant un certain temps réoxydé à l'interface eau/sédiment par les bactéries photosynthétiques anaérobies, les bactéries sulfoxydantes aérobies et par voie chimique. Puis, une surproduction non compensée de l'hydrogène sulfuré et une augmentation de la température permettent l'installation de l'anoxie par chute de l'oxygène dissous. C'est à ce moment précis que les Chromatiaceae prolifèrent, confèrent à l'eau sa couleur rouge et permettent une reminéralisation de l'hydrogène sulfuré (Fig. 12).

Contrairement à ce qu'il se passe dans l'étang du Faro (Genovese, 1963), "l'eau rouge" n'est pas constante durant toute l'année dans l'étang du Prévost, car les eaux très peu profondes sont rapidement réoxygénées sous l'action des vents.

Les bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes présentes tout au long de l'année dans les sédiments n'apparaissent et ne foisonnent dans les eaux que lorsque celles-ci sont déjà anoxiques et chargées en hydrogène sulfuré. Ce sont elles et elles seules qui ont permis, dans les maquettes de laboratoire comme dans le milieu naturel, de rééquilibrer le cycle de la minéralisation du soufre (Butlin, 1953; Pfennig, 1965; Kaiser, 1966).

"L'eau rouge", étudiée sur l'étang du Prévost en juillet 1976, due à la prolifération de bactéries colorées de la famille des Chromatiaceae peut être considérée comme un phénomène d'épuration. Le milieu est intoxiqué par la présence, bien antérieure, d'hydrogène sulfuré, suite logique d'un cycle minéral et organique trop intense.

L'anoxie totale est le résultat d'une consommation très élevée d'oxygène dissous par suite de la présence d'une charge organique beaucoup trop importante pour le milieu récepteur.

Littérature citée

- Amanieu, M., B. Baleux, O. Guélorget et P. Michel: Etude biologique et hydrologique d'une crise dystrophique (malaigue) dans l'étang du Prévost à Palavas (Hérault). *Vie Milieu (sér. B)* 25, 175-204 (1975)
- Butlin, K. R.: The bacterial sulphur cycle. *Research, Lond.* 6, 184-191 (1953)
- Cerruti, A.: Le condizioni oceanografiche e biologiche del mar Piccolo di Taranto durante l'agosto del 1938. *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol.* 14, 711-751 (1938)
- Cviic, V.: Red water in the lake "Malo Jezero". *Acta adriat.* 6, 1-15 (1955)
- Cviic, V.: Apparition d'eau rouge dans le "Veliko Jezero". *Rapp P.-v. Réunion. Commn. int. Explor. scient. Mer Méditerran.* 15, 79-81 (1960)
- Devèze, L. et Y. Fauvel: Un phénomène bactérien d'eaux rouges dans l'étang d'Ingril (Hérault). *Revue Trav. Inst. (scient. tech.) Pêch. marit.* 30, 365-374 (1966)
- Forti, A.: Il fenomeno del lago di sangue nello stagno di Pergusa in Sicilia. *Nuovo G. bot. ital.* 40, 76-80 (1933)
- Genovese, S.: The distribution of H₂S in the lake of Faro (Messina) with particular regard to the presence of red water. *In: Symposium on marine microbiology*, pp 194-204, Ed. by C. Oppenheimer. Springfield, Illinois, USA: Charles C. Thomas 1963
- Kaiser, P.: Ecologie des bactéries photosynthétiques. *Revue Ecol. Biol. Sol* 3, 409-472 (1966)
- Kriss, A.: *Marine microbiology*, 351 pp. London: Oliver & Boyd 1963
- Kuznetsov, S. I.: *Die Rolle der Mikroorganismen im Stoffkreislauf der Seen*, 309 pp. Berlin: VEB, Deutscher Verlag der Wissenschaften 1959
- Matheron, R. et R. Baulaigue: Sur l'écologie des Chromatiaceae et des Chlorobiaceae marines. *Annls Inst. Pasteur, Paris (sér. A)* 127, 515-520 (1976)
- Pfennig, N.: Eine vollsynthetische Nährlösung zur selektiven Anreicherung einiger Schwefelpurpurbakterien. *Naturwissenschaften* 48, p. 136 (1961)
- Pfennig, N.: Anreicherungskulturen für rote und grüne Schwefelbakterien. *Zentbl. Bakt. Parasitkde (Abt. I) Beih.* 1, 179-189 (1965)
- Pfennig, N.: The phototrophic bacteria and their role in the sulphur cycle. *Pl. Soil* 43, 1-16 (1975)
- Pfennig, N. and H. G. Trüper: The phototrophic bacteria. *In: Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. pp 24-60. Ed. by R. E. Buchanan and N. E. Gibbons. Baltimore, USA: Williams & Wilkins Co. 1974
- Schlegel, H. G. und N. Pfennig: Die Anreicherungskultur einiger Schwefelpurpurbakterien. *Arch. Mikrobiol.* 38, 1-39 (1961)
- Sorokin, J. and N. Donato: On the carbon and sulfur metabolism in the meromictic lake Faro (Sicily). *Hydrobiologia* 47, 241-252 (1975)
- Trüper, H. and S. Genovese: Characterization of photosynthetic sulfur bacteria causing red water in lake Faro (Sicily). *Limnol. Oceanogr.* 13, 225-232 (1968)
- Winogradsky, S.: Ueber Schwefelbakterien. *Bot. Ztg* 31, 489-512 (1887)