



## THESIS / THÈSE

### MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES DES ORGANISMES ET ÉCOLOGIE

#### Etude de la boucle microbienne au sein du plancton fluvial: la lyse phytoplanctonique

Antoine, Sébastien

*Award date:*  
2001

[Link to publication](#)

#### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

#### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



---

**FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX  
NAMUR**

**Faculté des Sciences**

**ETUDE DE LA BOUCLE MICROBIENNE AU SEIN DU PLANCTON FLUVIAL :  
LA LYSE PHYTOPLANCTONIQUE**

**Mémoire présenté pour l'obtention du grade de  
licencié en Sciences biologiques**

Sébastien ANTOINE

Septembre 2001

**Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix**  
**FACULTE DES SCIENCES**  
Secrétariat du Département de Biologie  
Rue de Bruxelles 61 - 5000 NAMUR  
Téléphone: + 32(0)81.72.44.18 - Téléfax: + 32(0)81.72.44.20  
E-mail: joelle.jonet@fundp.ac.be - <http://www.fundp.ac.be/fundp.html>

**Etude de la boucle microbienne au sein du plancton fluvial :  
La lyse phytoplanctonique**

ANTOINE Sébastien

Résumé

L'objectif de ce travail est la mise au point d'une méthode de mesure de la lyse phytoplanctonique en milieu fluvial. Nous avons appliqué et adapté une technique enzymatique datant de 1992 pour estimer le taux de lyse du phytoplancton. Cette technique est basée sur la mesure de l'activité des estérases, libérées suite à la lyse, dans le milieu.

L'application de la méthode lors des successions planctoniques de printemps dans la Meuse à Tailfer a permis l'obtention de premières données pour vérifier le rôle supposé de la lyse dans la boucle microbienne. En effet, la première étape de cette boucle est précisément l'assimilation par les bactéries hétérotrophes de carbone organique dissous « libéré » par le phytoplancton, et notre travail vise à évaluer la contribution de la lyse à cette libération.

Nos résultats confirment que la lyse algale est bien un processus par lequel le carbone organique phytoplanctonique devient disponible pour les bactéries, sa contribution intervient en moyenne pour 23% à la demande en carbone des bactéries hétérotrophes.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Septembre 2001

**Promoteur:** J.-P. Descy

*Je tiens à exprimer mes remerciements au Professeur J.-C. Micha qui m'a ouvert les portes du laboratoire d'Ecologie*

*Je remercie également le professeur J.-P. Descy qui m'a proposé ce travail et en a suivi le bon déroulement tout au long de cette année.*

*J'adresse toute ma sympathie au personnel de l'Unité d'écologie, en particulier à Laurent, Bruno et Francois dont la disponibilité et la gentillesse ne sont plus à démontrer.*

*Je tiens également à exprimer toute mon amitié à mes très chers collègues : Jérémy, Séamus, Denis, Stanislev, Simon et Roch .*

*Que serait des remerciements sans adresser un gargantuesque MERCI à mes parents qui m'ont permis de devenir ce que je suis.*

*Enfin mes plus chers remerciements vont à ma femme Lucile, depuis peu la mère de mon fils, pour tout ce qu'elle m'a apporté et m'apportera...*

## SOMMAIRE

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	1
0. Introduction.....	1
1. La dynamique du phytoplancton en rivière.....	3
1.1 Aspects généraux.....	3
1.2 Assimilation photosynthétique de carbone .....	4
1.3 Métabolisme des cellules algales.....	6
1.3.1 Respiration.....	6
1.3.2 Excrétion.....	8
1.3.3 Assimilation et utilisation des nutriments.....	9
1.4 Pertes dépendant de facteurs externes.....	10
1.4.1 Le grazing.....	11
1.4.2 La sédimentation.....	11
1.4.3 Les infections virales.....	13
1.4.4 Les infections fongiques.....	13
1.5 Conclusion.....	14
1.6 La composition du phytoplancton en Meuse.....	14
2. La lyse phytoplanctonique.....	15
2.1 Introduction.....	15
2.2 Facteurs responsables de la lyse algale .....	16
2.3 Description des méthodes d'estimation de la lyse phytoplanctonique.....	17
2.4 La matière organique dissoute.....	17
2.5 La boucle microbienne.....	19
2.6 Résumé de la littérature.....	21
3. Objectif du mémoire.....	23
II. MATERIEL ET METHODES .....	24
1. Le milieu étudié : la Meuse .....	24
2. Prélèvements et conservation des communautés planctoniques .....	26
2.1. Le phytoplancton.....	26
2.2. Le métazooplancton .....	27
2.3. Analyse complémentaire.....	27
3. Méthodes analytiques.....	28
3.1. Mesure de la chlorophylle a et des pigments .....	28
3.1.1. Dosage de la chlorophylle a en spectrophotométrie.....	28
3.1.2. Dosage des pigments chlorophylliens et caroténoïdes en HPLC.....	29
3.2. Biomasse et grazing du métazooplancton.....	30
3.3. Analyses physico-chimiques.....	31
3.3.1. Substances nutritives dissoutes.....	31
3.3.2. Paramètres généraux.....	32
3.3.3. Transparence de l'eau.....	32

4. Production primaire.....	33
5. Mesure du taux de lyse cellulaire.....	35
5.1. Mesure de l'activité estérasiq. dissoute.....	35
5.1.1. Principe de la méthode.....	35
5.1.2. Mode opératoire.....	36
5.1.3. Droite de calibration.....	37
5.2. Calcul du taux de lyse cellulaire journalier.....	38
 III. RESULTATS .....	 40
1. Caractérisation du milieu .....	40
1.1. Débit et température .....	40
1.2. Lumière dans la colonne d'eau .....	41
1.3. Paramètres chimiques .....	41
2. Les développements planctoniques de printemps .....	42
2.1. Composition taxonomique .....	42
2.2. Evolution de la biomasse .....	45
3. Suivi temporel du taux de lyse cellulaire .....	47
4. Comparaison des flux de carbone .....	51
4.1. Les sources de carbone .....	51
4.2. Les consommations de carbone .....	52
 IV. DISCUSSION .....	 54
 V. CONCLUSIONS.....	 58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	59
LEXIQUE .....	67
 ANNEXES	

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

## 0. INTRODUCTION

La lyse du phytoplancton est une rupture cellulaire survenant suite à différents facteurs stressants (température, parasitisme,...), à un choc mécanique ou encore suite à la mortalité naturelle. Suite à cette rupture, tous les constituants internes des algues planctoniques sont libérés dans le milieu. On devine de suite que la lyse algale, outre son rôle de facteur de perte pour le phytoplancton, jouerait également un rôle dans la boucle microbienne puisqu'elle libère des matières organiques dissoutes facilement assimilables par les bactéries hétérotrophes.

Ce mémoire prend toute sa signification quand on sait qu'en milieu fluvial rien ou presque n'a été réalisé pour tenter de quantifier la mortalité du phytoplancton. Jusqu'à présent on attribue principalement, outre la mortalité naturelle, au grazing et à la sédimentation le rôle de facteur de perte du phytoplancton. Seuls quelques travaux prennent également la lyse en compte dans les modèles d'écosystème pélagique. Mais presque aucune recherche n'a encore été réalisée pour quantifier ces différents processus de perte du phytoplancton. Mentionnons Véronique Gosselain qui a travaillé sur l'impact du zooplancton sur les communautés phytoplanctonique en Meuse. Mon mémoire, qui bien que son but premier est la mise au point d'une méthode pour estimer la lyse, donnera quelques idées du taux de perte par lyse.

Ce manque de connaissances sur la mortalité algale est bien mis en évidence dans les modèles écologique de rivières, tel le modèle RIVERSTRAHLER (Billen *et al.*, 1994) appliqué à la Seine (fleuve eutrophe comparable à la Meuse). Dans ce modèle, le grazing par le zooplancton n'est pas suffisant pour expliquer la chute de la population algale observée durant l'été. Les auteurs supposent alors qu'un mécanisme de lyse peut contribuer à expliquer cette chute. Et pour ce faire, il fixe hypothétiquement un taux de lyse pour que le modèle colle le plus possible à la réalité. Un autre exemple de modèle mathématique capable de simuler le développement du phytoplancton fluvial ou « potamoplancton » est le modèle POTAMON (Everbecq *et al.*, 2001), qui lui aussi utilise un terme de mortalité dépendant de la température pour décrire les variations de différents groupes d'algues dans des grands cours d'eau (Meuse, Moselle). Alors que les autres processus déterminant la dynamique du potamoplancton ont été étudiés par des mesures de terrain et/ou de laboratoire (production primaire, taux de respiration, d'excrétion, etc...), le taux de mortalité est une valeur que l'on estime « de façon

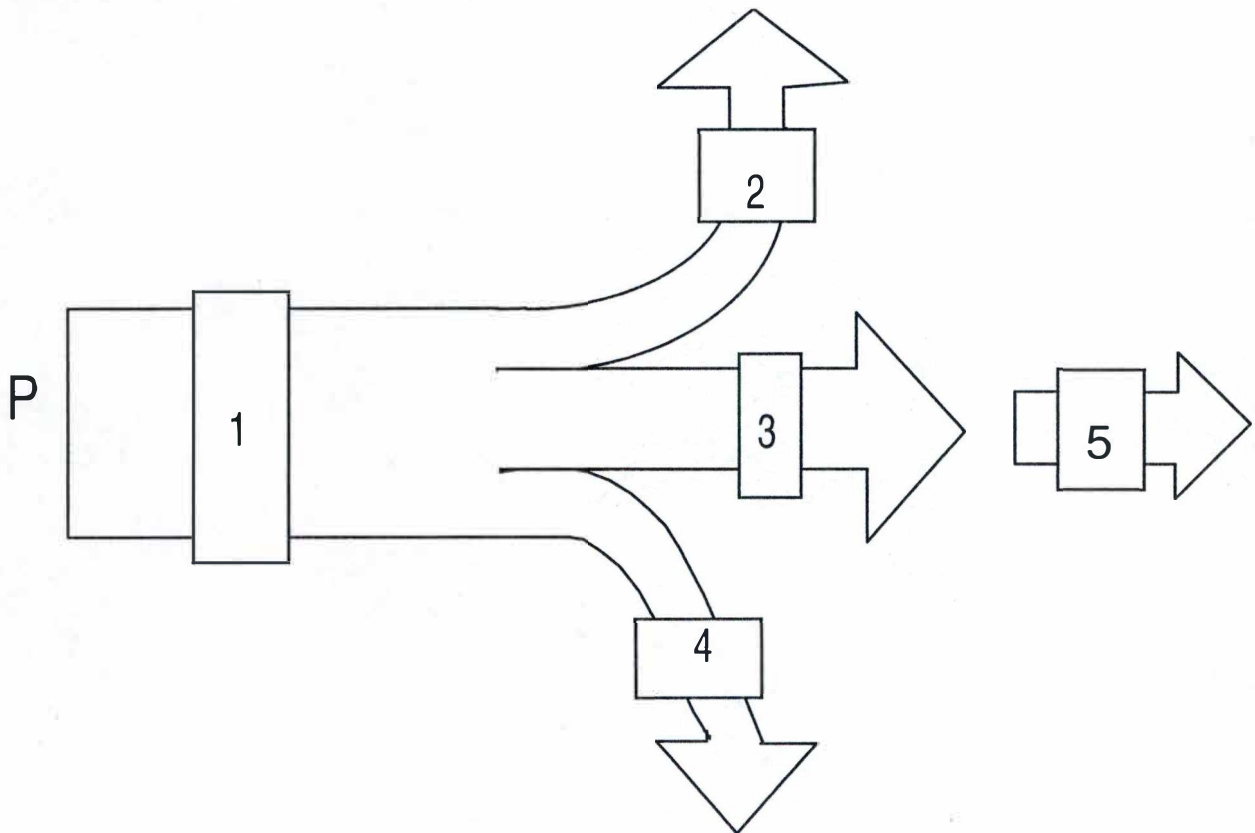
réaliste », mais dont les calculs par les modèles ne sont pas encore validés par des mesures expérimentales.

Un intérêt supplémentaire du travail réside dans le fait que l'on sait, d'après des études antérieures (Servais 1989, Servais *et al.* 2000), qu'un couplage étroit entre production bactérienne et production phytoplanctonique peut être observé en milieu fluvial. Le carbone organique dissous libéré suite à la lyse pourrait expliquer partiellement ce couplage.

# 1. LA DYNAMIQUE DU PHYTOPLANCTON EN RIVIERE

## 1.1. Aspects généraux

Le développement du phytoplancton dépend : de l'assimilation photosynthétique de carbone, de la synthèse de nouvelle biomasse et du métabolisme des cellules algales (respiration, excrétion, assimilation des nutriments) ainsi que des pertes dépendant de facteurs externes. .



P : Phytoplancton

1 : Assimilation photosynthétique de carbone et assimilation de nutriments.

2 : Pertes cataboliques par respiration

3 : Production de biomasse.

4 : Pertes de carbone organiques dissous par lyse et excrétion

5 : Pertes dépendant de facteurs externes (sédimentation, broutage,...).

Afin d'introduire à différentes mesures réalisées au cours de ce travail, nous rappellerons ci-après les caractéristiques essentielles des processus conditionnant la croissance et le développement des algues planctoniques.

Une attention particulière est accordée aux données ajustées spécifiquement à la Meuse suite aux nombreuses recherches déjà accomplies sur ce fleuve.

### 1.2. Assimilation photosynthétique de carbone

Le phytoplancton est un végétal chlorophyllien, il réalise donc la photosynthèse. Celle-ci est le processus majeur de synthèse de matière organique. Ces nouvelles molécules organiques sont produites à partir de molécules de CO<sub>2</sub> grâce à la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique. L'hydrogène nécessaire à ce processus provient de l'eau, l'oxygène est un produit secondaire de la réaction et sert d'accepteur d'électrons. De façon très simplifiée, le processus se résume comme suit :



L'activité photosynthétique ou production primaire peut donc se mesurer soit par l'assimilation de carbone soit par la production d'oxygène.

Cette activité photosynthétique dépend essentiellement de deux facteurs :

- La capacité des organismes présents à utiliser l'énergie lumineuse disponible.
- De la quantité moyenne de lumière reçue dans la partie visible du spectre selon une fonction  $P = f(I)$ .

Cette fonction (Fig. 1) décrit une courbe de type « courbe de saturation » :

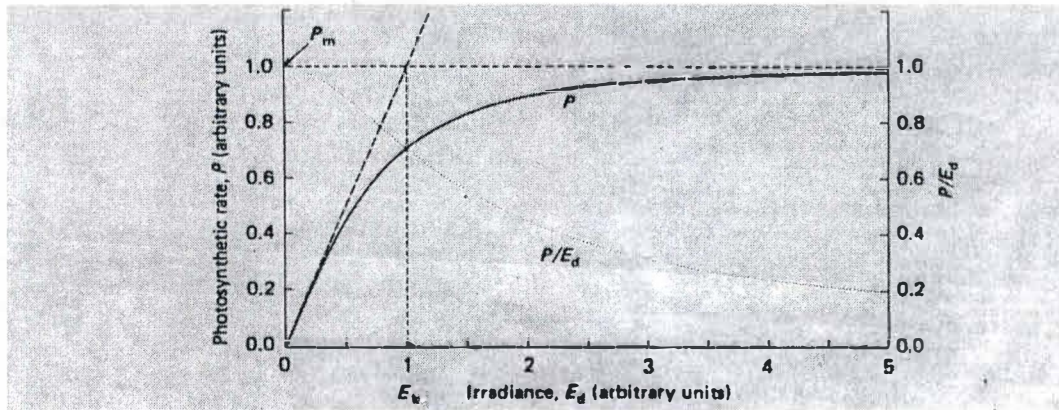


Figure 1 : Relation photosynthèse-lumière avec  
 en abscisse E = intensité lumineuse ( $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ )  
 en ordonnée P = taux de photosynthèse ( $\text{mcC}/\text{mgchl.a.h}$ ).  
 (D'après Kirk, 1983).

On peut observer que la photosynthèse ne s'accroît pas proportionnellement à l'intensité reçue : ceci s'explique par le fait que la vitesse d'absorption des photons est supérieure à celle des transferts d'électrons et des réactions sombres. En plus de la saturation à une valeur maximale de photosynthèse, on constate une diminution aux fortes intensités : c'est la photoinhibition.

Plusieurs formules mathématiques décrivent cette fonction, citons notamment Smith (1936), Talling (1957), Vollenweider (1965), Platt (1981). Nous utiliserons dans nos calculs une formule simplifiée de l'équation de Vollenweider qui tient compte d'une éventuelle photoinhibition (voir Descy *et al.*, 1987) :

$$P = 2.P_{\text{max}} \cdot \frac{I/2.I_k}{\sqrt{1 + I/2.I_k}}$$

Où P = le taux de photosynthèse ( $\text{mgC}/\text{mgchl.a.h}$ )

$P_{\text{max}}$  = le taux de photosynthèse à saturation ( $\text{mcC}/\text{mgchl.a.h}$ )

I = l'intensité lumineuse ( $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ )

$I_k$  = l'intensité lumineuse au « seuil de la saturation » ( $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ )

La production nette (PN) quant à elle, désigne la production brute moins les pertes par respiration (R). Elle représente le carbone disponible pour la croissance et la constitution de réserves internes. On considère simplement qu'une algue peut se diviser quand son quota

cellulaire en carbone double, du fait de sa PN. On peut ainsi calculer le taux de croissance optimal d'une communauté phytoplanctonique par la formule :

$$\mu = \ln \left( 1 + \frac{PN}{B} \right)$$

Où  $\mu$  = le taux de croissance exponentiel (/j)

PN = la production algale nette (mg C/m<sup>2</sup>.j)

B = la biomasse algale (mg C/m<sup>2</sup>)

On a vu que la respiration est un processus clef pour l'estimation de la production nette. En effet, le rapport entre production et consommation d'oxygène est directement lié à la profondeur de la rivière et plus précisément au rapport entre profondeur photique, dans laquelle a lieu la photosynthèse, et la profondeur totale. La respiration, qui se produit sur toute la colonne d'eau si l'on considère une répartition homogène de la biomasse algale, joue ainsi un rôle important dans le caractère autotrophe ou hétérotrophe du cours d'eau.

Par exemple, lorsque la profondeur et la turbidité augmentent (ce qui diminue la lumière disponible pour les algues), la production primaire, limitée à la couche photique, ne suffit plus à contrebalancer les pertes par respiration se produisant sur l'entièreté de la colonne d'eau : le système devient hétérotrophe.

### 1.3. Métabolisme des cellules algales

#### 1.3.1. *Respiration*

Nous ne parlerons ici que de la respiration « sombre » (ou mitochondriale) et de la photorespiration, sans pour autant oublier la respiration résistante au cyanure et celle des chloroplastes également présente chez les algues eucaryotes.

La respiration sombre est un processus de maintenance cellulaire utilisant comme substrat des carbohydrates ou d'autres molécules, et produisant de l'ATP par phosphorylations « oxydatives » au niveau des chaînes de transferts d'électrons (ETS). L'oxygène est l'accepteur final des électrons.

La respiration algale est cependant difficile à évaluer et généralement calculée étant donné que l'on ne connaît pas les différentes composantes planctoniques des bouteilles sombres incubées dans le cadre des mesures de production primaire. Les estimations de respiration algale peuvent être obtenues à partir de mesures sur cultures pures. Cependant les modèles de production du phytoplancton qui incorporent des taux de respiration expriment le plus souvent la respiration comme une fraction du taux maximum de la production brute. Une estimation couramment utilisée est

$$R = 0.1 P_{\max}$$

Cette relation est justifiée par le couplage existant entre photosynthèse et respiration mitochondriale à la lumière : une fixation active de CO<sub>2</sub> s'accompagne d'un apport important de substrats à la respiration.

Une étude spécifique sur la Meuse a permis d'affiner cette relation. Celle-ci est établie par Descy *et al.*, 1994 :

$$r = (0,046 \times P_{\max}) + 0,073 \quad (\text{mg C/mg chl.a.h})$$

Toutefois, il est bon de mentionner ici quelques facteurs dont on a prouvé l'interaction avec la respiration. Ainsi la respiration « sombre » :

- augmente par addition d'éléments nutritifs
- augmente avec l'âge des cellules
- est influencée par l'histoire lumineuse antérieure des cellules

De plus, le taux de respiration par unité de biomasse varie en raison inverse de la taille des cellules. La respiration montre encore une certaine dépendance par rapport à la profondeur. Une diminution du taux respiratoire en fonction de la profondeur et ses variations au cours d'un cycle journalier paraissent liées aux quantités de carbone stocké dans les cellules au cours des phases d'éclairement précédentes.

La photorespiration, autre phénomène de consommation d'oxygène interfère avec la respiration sombre. La photorespiration consiste en réalité en deux types de réactions distinctes : la réaction de Melher qui réalise une ré-oxydation des intermédiaires redox des « réactions claires » de la photosynthèse et une réaction de l'oxygène à la lumière avec le

composé ribulose biphosphate carboxylase-oxygénase (Rubisco) se produisant sous faibles concentrations en CO<sub>2</sub>.

La photorespiration des algues pourrait être responsable de la dépression de la photosynthèse (photoinhibition) au voisinage de la surface, due à des conditions de fortes luminosités, de sursaturation en oxygène et de déficit en CO<sub>2</sub> (Pourriot *et al.*, 1982). Ces conditions augmentent également l'excrétion, une partie de la production nette se retrouvant alors dans le milieu sous forme de matières organiques dissoutes. L'excrétion de l'acide glycolique et la photorespiration apparaissent ainsi comme deux processus difficilement dissociables (Pourriot *et al.*, 1982).

### 1.3.2. Excrétion

C'est une perte de carbone assimilé sous forme de composés organiques dissous. Comme nous l'avons déjà évoqué, il existe, au niveau du métabolisme de l'acide glycolique, une liaison entre excrétion et photorespiration. Quand les algues « photorespirent », la Rubisco, en plus de son activité de catalyse de la carboxylation, catalyse également une activité oxygénase :

Ribulose-1-5-biphosphate + O<sub>2</sub>

⇒ acide 3-phosphoglycérique + acide 2-phosphoglycolique

Le phosphoglycolate produit dans cette réaction est ensuite converti en glycolate qui peut être excrété ou métabolisé via le cycle d'oxydation de la photorespiration.

Ce glycolate, ainsi que d'autres matières organiques excrétées (acides aminés, peptides, monosaccharides et divers carbohydrates), est donc disponible comme source de carbone par les bactéries hétérotrophes.

Dans le cas de la Meuse (Descy *et al.*, soumis), on a mis en évidence une relation linéaire significative entre le carbone organique excrété (COE) et la production particulaire (PP) (COE = 0,07 PP, r<sup>2</sup> = 0,67, n = 15). Le COE semble donc bien être un processus métabolique actif, impliqué dans un couplage entre production algale et production primaire. Cette bonne relation permet donc, sur base des données de production particulaire journalière (PPJ), de calculer le COE journalier suivant la relation :

$$\text{COEJ (g C/m}^2\text{.j)} = 0,07 \cdot \text{PPJ (gC/m}^2\text{.j)}$$

Cette même étude pointe également le fait, que dans la Meuse, le carbone dissous excrété par les algues n'est pas la source majeure de carbone dissous d'origine phytoplanctonique assimilé par les bactéries hétérotrophes (Descy *et al.*, soumis).

### 1.3.3. Assimilation et utilisation des nutriments

Sous le terme de nutriment est repris l'azote, le phosphore et la silice pour les diatomées. En ce qui les concerne, seule la disponibilité de chacun d'eux est cruciale pour le développement des espèces phytoplanctoniques mais en aucun cas leurs rapports ; ceux-ci ne sont que la conséquence de leur assimilation (Reynolds, 1997).

Le modèle de Monod donne une mesure directe de la relation entre la concentration des nutriments dans le milieu et le taux de croissance algale :

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_{\mu} + S}$$

Avec,  $\mu$  et  $\mu_{\max}$  représentent respectivement le taux de croissance et le taux de croissance maximale

$S$  = la concentration en nutriment

$K_{\mu}$  = la constante de demi-saturation, c'est-à-dire la concentration en substrat pour laquelle  $\mu = \mu_{\max}/2$ .

Ce modèle, s'il décrit bien le taux de croissance et sa constante de demi-saturation, ne permet pas de rendre compte de la constitution et de l'utilisation de réserves internes.

Le modèle des quotas cellulaires variables distingue deux processus reliant la concentration externe en nutriments à la croissance : l'assimilation et l'utilisation des stocks intracellulaires pour la croissance. La première étape évalue la relation entre la concentration externe en nutriments et l'incorporation de ceux-ci dans des « pools » internes et est décrite par l'équation de Michaelis-Menten :

$$V = \frac{V_{\max} S}{K_s + S}$$

Où  $V$  et  $V_{\max}$  représentent respectivement la vitesse d'assimilation et la vitesse d'assimilation maximum

$K_s$  = la constante de demi-saturation pour l'assimilation

La deuxième étape, décrit le taux de croissance non plus comme une fonction simple des concentrations externes en nutriments mais comme une grandeur dépendante des stocks intracellulaires :

$$\mu = \frac{\mu_{\max} (Q - Q_0)}{K_{\mu} + (Q - Q_0)}$$

Où  $Q$ , le quota cellulaire, est la quantité du nutriment limitant disponible au temps  $t$   
Pour chaque cellule et  $Q_0$  est le quota minimum, auquel plus aucune croissance  
Ne se produit.

Les paramètres  $\mu_{\max}$ ,  $K_s$  et  $V_{\max}$  varient de façon spécifique et sont de plus influencés par une série de facteurs abiotique comme la température (l'assimilation dépendant du métabolisme), de sorte que, dans des conditions d'équilibre données, une espèce est toujours susceptible de pousser plus vite que les autres (Tilman & Kilham, 1976).

Peu de travaux ont été réalisés sur les nutriments et la croissance algale en Meuse, du fait que les concentrations en N, P et Si sont la plupart du temps très élevées et a priori non limitantes pour la croissance algale. Ceci est vérifiable notamment par la détermination des rapports C:N et C:P du seston (matières en suspension + phytoplancton) de la Meuse, qui indique des valeurs proches du Redfield ratio, caractéristiques d'algues non carencées en nutriments.

#### 1.4. Pertes dépendant de facteurs externes

Je vais maintenant parler des processus de perte, dépendant de facteurs externes, habituellement reconnus comme ayant un impact diminuant la biomasse du phytoplancton. Ceux-ci ont des origines diverses. Il y a les processus de perte lié à des facteurs biotiques - le broutage par le zooplancton et éventuellement les animaux benthiques filtreurs, la mortalité naturelle et le parasitisme – et d'autres dépendant de facteurs abiotiques, tels la sédimentation et l'exportation. La lyse algale, découlant de la mortalité naturelle ou non du phytoplancton, est bien évidemment aussi un facteur de perte. Nous en parlerons dans un chapitre particulier.

#### 1.4.1. *Le grazing*

Le terme « grazing » ou broutage représente la consommation de phytoplancton, que ce soit par le zooplancton ou le zoobenthos.

Bien que les dynamiques du zooplancton en rivière soient encore peu comprises (Thorp *et al.*, 1994), les premières études sur le sujet ont bien montré l'importance primordiale du transport vers l'aval et de la température sur le développement. Les espèces zooplanctoniques à temps de génération court, comme les rotifères, vont être favorisées en rivière. Même si bien sur la disponibilité en nourriture, essentiellement algale, est aussi nécessaire au développement d'une communauté, la plupart des études récentes insistent sur la prédominance des facteurs hydrodynamiques au niveau du contrôle du zooplancton fluvial (Pace *et al.*, 1992, Basu & Pick, 1996). « La rétention par la rivière », liée à l'hétérogénéité des conditions d'écoulement dans les cours d'eau peu aménagés, contribue probablement à augmenter le temps de séjour des masses d'eau favorisant ainsi le développement du plancton. Pour deux grands cours d'eau européens (la Meuse et la Moselle), les études de Viroux (2000) ont bien confirmé le rôle respectif des variables contrôlant le développement du zooplancton, mettant en lumière le caractère déterminant des facteurs liés à l'hydrologie sur le développement des communautés. On sait, grâce à des études récentes (surtout Gosselain, 1998) que pendant les périodes de débit relativement faible, le grazing par le zooplancton peut entraîner des variations de composition et de biomasse algale. A certaines périodes, le grazing par la communauté zooplanctonique fluviale peut devenir un terme majeur de perte du phytoplancton. Dans d'autres fleuves de plaine, le développement des filtreurs benthiques peut être considérable, surtout lorsqu'il s'agit d'espèces envahissantes (par exemple les mollusques bivalves comme *Dreissena* ou *Corbicula*). Dans ces secteurs fortement colonisés, la prédation par les filtreurs benthiques peut affecter fortement le phytoplancton (Gosselain, 1998).

#### 1.4.2. *La sédimentation*

Ayant une densité légèrement supérieure à l'eau, toutes les cellules algales ont en principe une tendance à sédimenter. Cependant, de grandes différences dans les taux de sédimentation existent entre espèces (Eppley *et al.* 1967, Passow 1991, Crocker et Passow 1995). La sédimentation dépendant principalement de la taille, de la densité du phytoplancton, ainsi que

de la propension des algues à s'agréger entre elles et avec des particules détritiques. Notons que même au sein d'une espèce des différences subsistent en fonction du statut physiologique et du stade de développement (Eppley *et al.* 1967, Smetacek 1985, Waite & Harrison 1992). Rappelons que la sédimentation peut aussi devenir un mécanisme de survie pour certaines algues (principalement des diatomées) car elle peut permettre d'éviter la carence en nutriments dans les eaux de surface ainsi que la compétition avec d'autres espèces plus efficaces.

Les pertes effectives par sédimentation en rivière dépendent de deux facteurs : la vitesse du courant et la profondeur de la rivière. Des études en pilotes expérimentaux et sur le terrain ont démontré l'importance particulière de la profondeur sur les pertes effectives.

Ces pertes par sédimentation sont rarement mesurées en rivière, mais plutôt calculées par des équations de type :

$$\text{Taux de sédimentation (t/h)} = \frac{1}{H} \cdot V_s \cdot F_v$$

ou, H = hauteur d'eau (m)

$V_s$  = vitesse de sédimentation du phytoplancton (m/h)

$F_v$  = facteur dépendant de la vitesse du courant

Dans le secteur de Meuse étudié dont la profondeur moyenne est de 4 m, le taux de sédimentation du phytoplancton varie de 0 à 0,15 /j (Gosselain *et al.*, 1994), ce qui signifie que 15% de la biomasse algale de la colonne d'eau peut sédimenter par jour, en condition de faible débit. Dans des rivières moins profondes, les taux de perte, inversement proportionnels à la profondeur, peuvent atteindre des valeurs beaucoup plus fortes qui atteignent ou dépassent parfois le taux de production primaire. Dans de telles conditions, les algues à vitesse de sédimentation élevées sont défavorisées : on assiste alors à la disparition des diatomées et à une augmentation relative de l'abondance des algues vertes et d'algues flagellées (Cryptophycées par exemple). Ainsi la sédimentation peut-être vue comme un facteur de disparition majeur du phytoplancton dans des rivières ou secteurs de rivière de faible profondeur. De plus, c'est un facteur sélectif qui peut intervenir dans les variations

saisonniers en un même site, et dans les variations longitudinales de composition algale dans un même cours d'eau.

Le devenir des algues sédimentées est peu connu : habituellement, on considère qu'elles apportent au sédiment de la matière organique particulaire. Elles seraient alors décomposées sur le fond ou serviraient de nourriture à des organismes benthiques. Par ailleurs, la biomasse sédimentée peut contenir des "spores de persistance" qui peuvent s'accumuler sur le fond, survivre à l'état de repos et constituer un *inoculum* d'une population future. A ce moment, la sédimentation peut être considérée au moins partiellement, comme un mécanisme de survie plutôt que comme un processus de disparition définitive des populations algales. Ces phénomènes, comme en milieu lacustre, restent cependant à explorer en rivière.

#### 1.4.3. *Les infections virales*

Des virus et des particules de type virus sont présents dans l'eau et leur abondance est de l'ordre de  $10^6$  à  $10^8$  par ml (Maranger et Bird, 1995). La plupart de ces virus sont supposés bactériophages (Bratbak *et al.*, 1990) mais des virus infectant les cellules algales peuvent être massivement présents et infecter jusqu'à 50% du phytoplancton (Brussaard *et al.*, 1996). D'où la mortalité phytoplanctonique due aux virus peut-être un important facteur régulant la structure de la communauté algale, la diversité et la production de biomasse en milieu marin (Bratbak *et al.*, 1993). Proctor & Fuhrman en 1990, on aussi montré que l'infection par des bactériophages peut être un mécanisme important de la mortalité des procaryotes (bactéries, cyanophycées) marins.

#### 1.4.4. *Les infections fongiques*

Le phytoplancton est aussi sujet à une mortalité de par les infections parasitaires (Hutchinson 1967, Reynolds 1984, Lampert *et al.* 1997). Le phytoplancton d'eau douce peut-être infecté par des Oomycètes et des Chytridiomycètes [e.g. (Canter-Lund et Lund 1995)]. La dispersion et l'infection sont réalisées via des zoospores flagellées qui sont par après uniflagellées chez les Chytridiomycètes et biflagellées chez les Oomycètes. Ces parasites sont hôte-spécifique, la plupart attaquant seulement une seule espèce ou quelques espèces apparentées. On peut ajouter que la population hôte dans son entièreté est susceptible d'une attaque parasitaire. Les

infections ne sont pas limitées aux cellules affaiblies ou moribondes (Holfeld 2000). La cellule hôte infectée est blessée ou le plus souvent tuée par les parasites (Canter et Lund 1995). L'infection peut survenir dans une grande gamme de conditions environnementales et à une faible densité de la population algale hôte (Holfeld 1998).

Le parasitisme sélectif d'une espèce phytoplanctonique peut favoriser le développement d'une autre espèce, et dans ce cas peut-être un des facteurs influençant la succession saisonnière (Canter et Lund 1953, Reynolds 1973). D'un autre côté, le parasitisme par les champignons est influencé par de nombreux facteurs environnementaux, tel la température, la lumière, une limitation en nutriment, et probablement la production extracellulaire de substances par l'hôte (Van Donk, 1983).

### 1.5. Conclusion

Au final, la dynamique du phytoplancton est donc contrôlée par l'équilibre entre un terme de production, et des termes de disparition liés au métabolisme des algues et aux caractéristiques biotiques et abiotiques de leur environnement.

En rivière cependant, tous ces processus sont très largement dépendant des facteurs physiques : hydrologie (débit, vitesse d'écoulement, temps de rétention des masses d'eau), température et lumière.

### 1.6. La composition du phytoplancton en Meuse

En Meuse le phytoplancton est fort dominé, durant la majeure partie de l'année, par les diatomées, tout en abondance (62% de l'abondance totale exprimée en nombre d'unités par ml d'eau) qu'en biomasse (de 47 à 80% de la biomasse exprimée en carbone). Ces diatomées sont les principales responsables du « bloom » printanier, constitué essentiellement par la centrique unicellulaire *Stephanodiscus* du groupe *hantzschii*. On observe éventuellement une seconde poussée automnale de ces diatomées centriques.

En été par contre les algues vertes (32% de l'abondance totale et 8 à 15% de la biomasse exprimée en carbone) sont plus développées et constituent le groupe algal le plus diversifié. On rencontre, en moindre proportion, d'autres groupes tels des Dinophycées, Cryptophycées et Cyanobactéries ainsi que plus rarement encore quelques Chrysophycées et Euglénophycées.

## 2. LA LYSE PHYTOPLANCTONIQUE

### 2.1 Introduction

Jusqu'à ce jour, très peu d'étude ont été réalisées sur la lyse phytoplanctonique. En 1974 Jassby & Goldman observent dans le « Castle lake » que le déclin du phytoplancton au printemps peut ne pas être attribuée au transport des masses d'eaux, sédimentation ou grazing. Ils suggèrent une mortalité cellulaire comme la cause principale de la perte phytoplanctonique dans le lac. Reynolds *et al.* (1982) trouvent que ni la sédimentation ni le grazing sont efficaces dans le contrôle de la croissance de *Microcystis* sp dans deux enceintes expérimentales. Ils suggèrent que la lyse des cellules algales observée dans ces enceintes explique la chute de population. Ballek & Swift (1986) mentionnent la mort de *Pyrocystis noctiluca* carencées, en condition de haute intensité lumineuse dans le laboratoire. Gieskes & Elbrächter (1986) ont observé des frustules vides de diatomées après une tempête, pendant une croisière dans le Pacifique sud et ont montré que l'incubation de cellules plasmolysées aboutit à la mort des cellules.

Il faudra attendre 1992 où Van Boekel *et al.* étudient la lyse du phytoplancton et soulignent l'importance potentielle de ce facteur de perte dans la décroissance du bloom printanier dans les eaux littorales. C'est également Van Boekel *et al.* qui ont mis au point une nouvelle technique basée sur la mesure de l'activité des estérases libérées dans le milieu suite à une rupture des membranes cellulaires.

Depuis lors, de nombreuses recherches ont été menées, surtout par deux équipes celles de Brussaard *et al.* et de Agusti *et al.* ; toutes deux travaillant en milieu marin. Ces équipes étaient motivées pour combler le manque d'intérêt à prendre en compte la lyse cellulaire dans les modèles d'écosystème pélagique où la lyse phytoplanctonique ne figure pas comme facteur de perte au même titre que la sédimentation ou le grazing.

On remarque de suite que la majorité des études ont été réalisées en milieu marin, ce qui montre l'intérêt d'étudier également ce phénomène en milieu fluvial, même si les données sont différentes. **En milieu marin**, il a été montré que la lyse du phytoplancton peut être un facteur de perte significatif (Brussaard *et al.* 1997) et que c'est une source importante de carbone organique pour la boucle microbienne (Brussaard 1995). Ensuite une saisonnalité a été mise en évidence dans les phénomènes de lyse phytoplanctonique (Agusti *et al.*). **En**

**rivière**, à notre connaissance, aucune étude n'a encore mesuré la mortalité phytoplanctonique, alors que ce terme de disparition apparaît dans les modèles de dynamique phytoplanctonique où il est représenté simplement par un terme dépendant de la température. Il est en général du même ordre de grandeur que la respiration algale. Certains auteurs postulent que la mortalité peut augmenter en été du fait d'infections virales, introduisant dans leurs modèles un accroissement de la mortalité due à ces infections. De plus, des recherches sont menées au laboratoire sur la boucle microbienne en milieu fluvial et des études récentes cherchent à identifier les processus de transfert du carbone phytoplanctonique dissous vers les bactéries hétérotrophes. Dans ces processus, la lyse algale pourrait être impliquée mais rien ne permet de dire si elle joue un rôle significatif.

## 2.2. Facteurs responsables de la lyse algale

Il semble logique de supposer que la lyse cellulaire se produit principalement quand les populations algales sont stressées. Les facteurs stressants habituels cités sont : une limitation par les nutriments, une photoinhibition, les radiations UV, une température physiologiquement incompatible, une attaque virale ou fongique ou encore bactérienne, une rupture physique. La mort physiologique des cellules algales conduit également à leur lyse (autolyse). La susceptibilité des cellules à l'autolyse semble être fonction de leur état physiologique et varie suivant les espèces algales (Brussaard *et al.*, 1997). A ce sujet, une étude récente montre la possibilité pour les organismes unicellulaires (dans ce cas ci *Thalassiosira weissflogii*) de mort autoprogrammée, telle l'apoptose (Berges *et al.*, 1998). A noter également que lorsque les cellules vieillissent, leur membrane devient plus poreuse et permet plus facilement le passage des molécules organiques vers l'extérieur de la cellule (Sell & Overbeck 1992).

Jusqu'à présent j'ai épinglé le rôle le plus couramment étudié de ce processus qui est la participation de la lyse algale comme un facteur de perte important pour le phytoplancton. Mais peut-être plus important est le rôle de la lyse cellulaire comme source significative de matières organiques dissoutes.

### 2.3. Description des méthodes d'estimation de la lyse phytoplanktonique

Deux méthodes sont décrites dans la littérature pour estimer la vitesse spécifique de lyse journalière.

La première, est un dénombrement des frustules siliceux vides sous microscope, mis en rapport avec le nombre de diatomées vivantes. Ceci a surtout été développé en culture monospécifique de *Ditylum brightwellii* (Brussaard 1997). Séduisante de prime abord, cette technique n'en comporte pas moins de sérieuses imprécisions quant à la décision de compter une cellule comme morte ou non. De plus cette méthode n'est utilisable que pour les diatomées.

La deuxième méthode, déjà énoncée, est une méthode enzymatique mise au point par Van Boekel *et al.* en 1992. Cette technique pour estimer la lyse du phytoplancton se base sur la mesure de l'activité des estérases dans le milieu. Le choix des estérases se justifie par le fait que ces enzymes sont strictement cytoplasmiques et ne se retrouvent dans le milieu qu'après rupture cellulaire. (Rotman & Papermaster 1966, Van Boekel *et al.* 1992). Il faut savoir que les estérases sont ubiquistes, et donc il faut admettre l'hypothèse que l'activité estérasique dissoute (AED) résulte de la lyse du seul phytoplancton. A l'appui de cette hypothèse, on a montré que la concentration des estérases dans les autotrophes est de loin supérieure à celle dans les hétérotrophes, ce qui fait de ces enzymes un traceur sûr du contenu cellulaire algal (Agusti *et al.*, 1998). En outre une fois libérées dans le milieu, les estérases sont dégradées par altération physico-chimique des protéines et par hydrolyse bactérienne. Il y a donc nécessité de réaliser une mesure du taux de dégradation de l'enzyme.

### 2.4. La matière organique dissoute

Le phytoplancton influence la composition de l'eau par son prélèvement en carbone inorganique et nutriments pour la synthèse de constituant organique cellulaire (Eppley and Peterson 1979) et par excrétion et perte de matière organique dissoute (Mague *et al.* 1980). La lyse conduit également à la libération rapide des constituants cellulaire dans le milieu (Sondergaard, 1997 in Agusti *et al.*, 1998). Le peu qui est connu à propos de la composition en matières dissoutes produites par le phytoplancton (Lancelot, 1984) indique qu'elles comportent tous les types de substances : des carbohydrates (mono-, oligo-, et

polysaccharides), composés azotés (acides aminés, protéines et polypeptides), lipides (acides gras), acides organiques (glycolate, acides tricarboxyliques, vitamines).

Des études sur les dynamiques de décomposition du phytoplancton ont indirectement montré que la lyse du phytoplancton est une source de substrat carboné pour les bactéries pélagiques (Newell *et al.* 1981, Hansen *et al.* 1986, Biddanda 1988, Cristaki & Wambeke 1995). Par ailleurs, la production bactérienne et/ou l'abondance des bactéries hétérotrophes sont souvent significativement corrélées avec la production primaire algale et/ou la concentration moyenne de chlorophylle a, estimateur de la biomasse phytoplanctonique, et ceci aussi bien en rivière que dans d'autres milieux (Fig.2) ( Bird & Kalff 1984, Laanbroek *et al.* 1985, Lancelot & Billen 1984, Van Boekel *et al.* 1992).

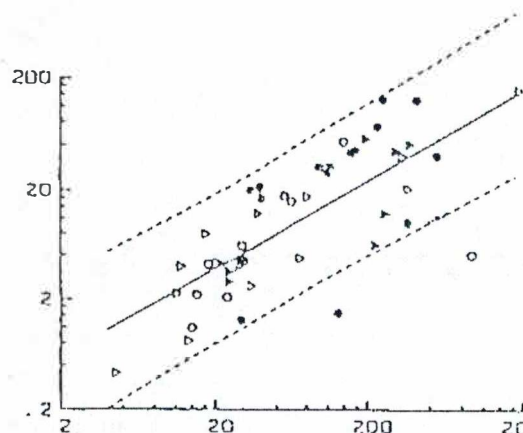


Figure 2 : Relation entre la production bactérienne en y (mg C/m<sup>3</sup>.j) et la production primaire nette en x (mg C/m<sup>3</sup>.d). Les marques noires représentent les lacs et les blanches les systèmes marins (d'après (Cole *et al.*, 1988).

D'autre part, il est bien établi que les bactéries hétérotrophes sont les principaux décomposeurs de matière organique dans les écosystèmes aquatiques, que se soit dans la colonne d'eau ou dans les sédiments (Fenchel & Blackburn 1979, Wetzel 1982). Plusieurs laboratoires ont de plus montré qu'il y a une rapide reminéralisation des débris algaux par les bactéries (Newell *et al.* 1981, Fukami *et al.* 1981, Garber 1984, Biddanda 1988), qui pourrait jouer un rôle dans la succession d'espèces phytoplanctoniques grâce à la reminéralisation des nutriments limitants.

Il y a donc dans les écosystèmes pélagiques un étroit couplage entre production primaire et production bactérienne, qui s'explique globalement par le fait que les micro-organismes autotrophes pélagiques sont la principale source de matière organique assimilable par les

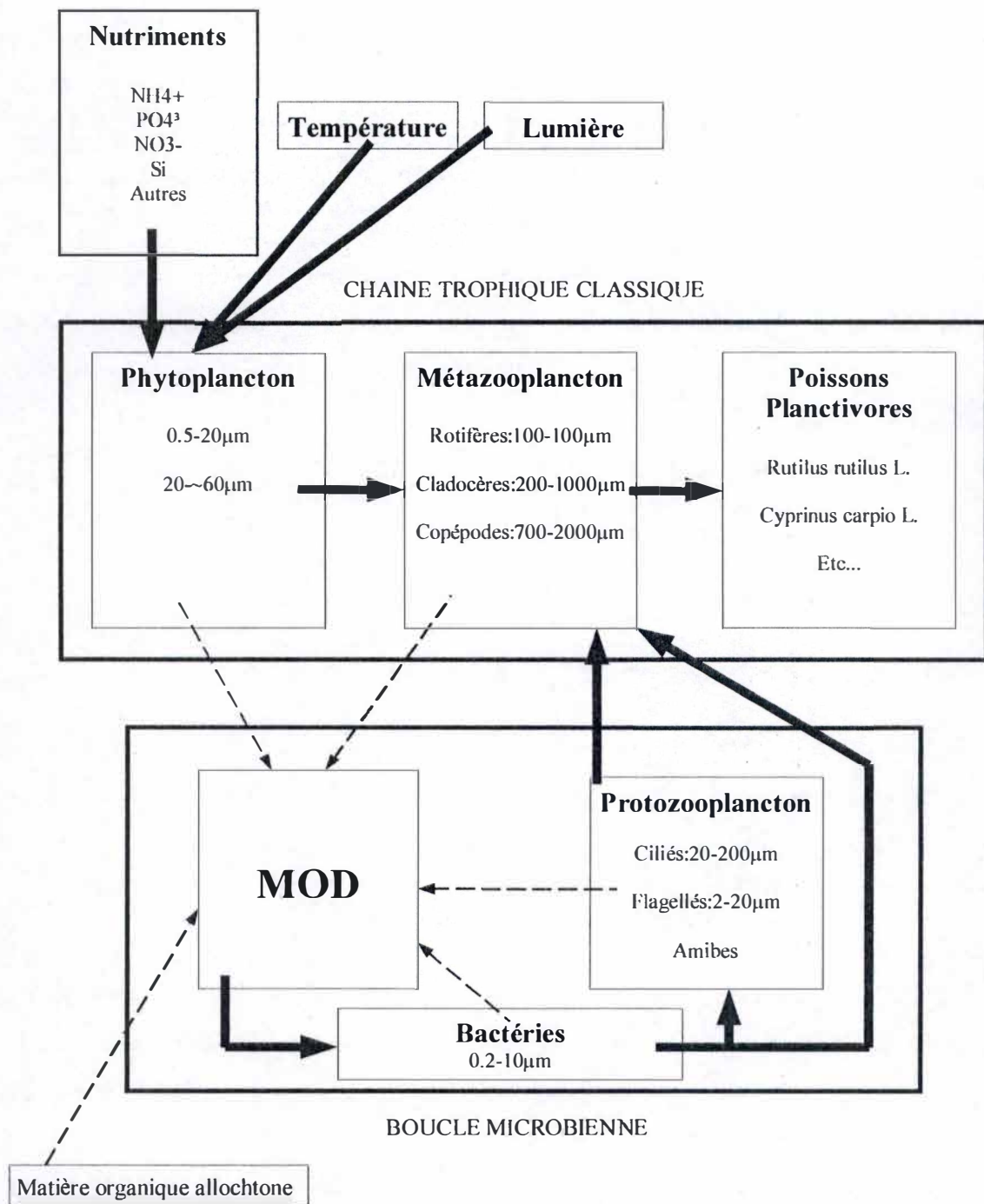


Figure 3 : schéma de la boucle microbienne. Les traits pleins correspondent aux flux de nourriture. En pointillé, les différentes sources alimentant le pool en matières organiques dissoutes.

bactéries hétérotrophes. Tout le problème est d'identifier les processus par lesquels la matière organique algale devient disponible pour les bactéries.

Potentiellement, le carbone organique libéré par la lyse des cellules algales est une source significative de carbone directement assimilable par les bactéries.

Dans le souci d'être complet, il faut ajouter que le COD (carbone organique dissous) n'est pas seulement libéré par la lyse du phytoplancton, mais peut aussi venir de l'excrétion ou du « sloppy feeding » (rejet de matière organique lors de l'ingestion d'algues par le zooplancton) du zooplancton (Pace *et al.* 1984, Jumars *et al.* 1989, Peduzzi & Herndl 1992) et d'origine exogène (feuilles mortes, rejets d'égouts,...). Notons également dans une moindre mesure, les substances polymériques extracellulaires sécrétées par les diatomées qui peuvent servir de source de matière organique, notamment pour les bactéries.

## 2.5. La boucle microbienne

Le taux de croissance rapide et le rendement de croissance élevé des bactéries aquatiques ont suggéré à beaucoup de chercheurs que la production de biomasse bactérienne hétérotrophe représente un chaînon important entre les détritus, la matière organique dissoute, et les niveaux trophiques supérieurs (Paerl 1978, Porter *et al.* 1979, Williams 1981 ; Ducklow *et al.* 1986). La meilleure connaissance de l'importance de la densité bactérienne a été rendu possible grâce au développement des techniques de dénombrement direct des bactéries. Ces techniques ont également permis de mettre en évidence la présence et l'abondance des prédateurs de ces bactéries, qui sont essentiellement des protistes hétérotrophes nanoflagellés (HNFs) . Ceci a complètement modifié les proportions de biomasse habituellement attribuées aux différents hétérotrophes de la chaîne trophique classique. Tout cela a mené au concept de boucle microbienne (Fig. 3), très en vogue pour le moment.

On remarque sur le schéma que les HNFs ne sont pas les seuls prédateurs des bactéries. Notons, les flagellés mixotrophes (Porter, 1988), les ciliés (Carrias *et al.*, 1996) ainsi que des métazoaires : notamment les cladocères (Jurgens, 1994) et les rotifères (Ooms-Wilms, 1997). Il existe des différences de composition et d'abondance de ces micro-organismes planctoniques dans les milieux lacustre et marin mais les abondances relatives des bactéries et

des protozoaires nanoflagellés sont similaires. De plus, en milieu fluvial, à cause du faible temps de séjour des masses d'eau, le métazooplancton (métazoaires planctoniques) n'a que peu de temps pour se développer et par conséquent le zooplancton est fortement dominé par le petit zooplancton (rotifères) qui peut-être important (jusqu'à 2-3000 ind./l).

Dans la Meuse, les rotifères dominent toute l'année mais les crustacés peuvent représenter une biomasse importante pendant l'été (Viroux 1997). La plupart des rotifères sont omnivores. Ainsi les rotifères, en plus de leur rôle dans la chaîne trophique classique via l'ingestion de phytoplancton, interviennent probablement dans la boucle microbienne en ingérant des protozoaires et de grandes bactéries.

Nous voyons donc que le métazooplancton joue aussi un rôle dans la boucle mais rappelons que la mortalité bactérienne est régulée principalement par la pression de grazing exercée par le protozooplancton (Servais *et al.* ; 2000).

Plusieurs études démontrent l'importance de la boucle microbienne dans les flux de carbone comme dans le recyclage des nutriments à l'intérieur de la zone photique dans toutes sortes d'écosystèmes pélagiques (Andersen & Sorensen 1986, Coffin & Sharp 1987, Painting *et al.* 1993).

On a déjà vu qu'une partie du carbone algal se retrouve dans la biomasse bactérienne : ce carbone provenant de la lyse du phytoplancton ou encore d'une partie de la production libérée sous forme d'excrétion de molécules organiques comme par exemple le glycolate formé en excès aux forts éclaircissements. Une étude récente démontre que dans la Meuse, bien qu'il soit effectivement assimilé par les bactéries, le carbone dissous excrété par les algues n'est pas la source majeure de carbone dissous d'origine phytoplanctonique (Fig.4) assimilé par ces bactéries (Descy *et al.*, soumis). On sait aussi que la source principale de carbone pour les bactéries hétérotrophes, dans un système fluvial recevant relativement peu de rejets polluants, est d'origine autochtone (Servais 1989, Servais *et al.*, 2000). Il est donc envisageable que la lyse des cellules algales et le « sloppy feeding » soient les sources majeures de ce carbone phytoplanctonique assimilé par les bactéries.

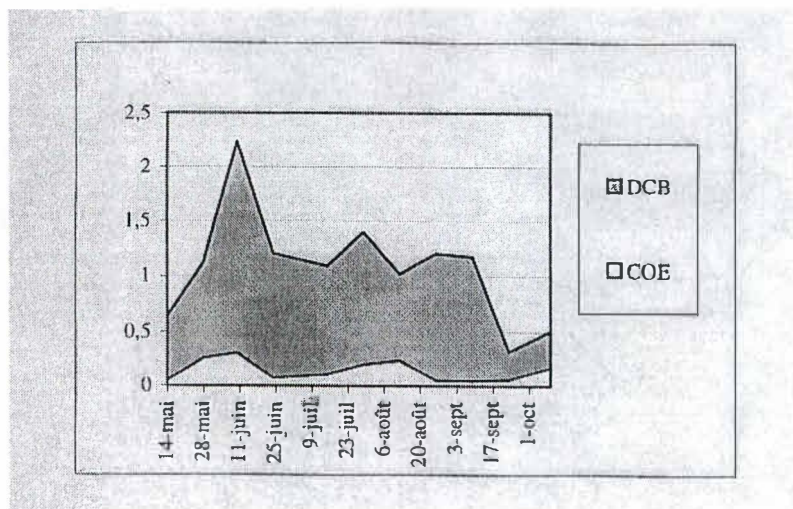


Figure 4 : Evolution de la demande en carbone des bactéries (DCB) et du carbone organique excrété (COE) par le phytoplancton pour l'année 1996 à la Plante. Les deux paramètres sont exprimés en gC/m<sup>2</sup>.j (d'après François, 2000).

Signalons que l'importance de la boucle microbienne en milieu fluvial peut-être discutée : s'il y a bien un couplage production phytoplanctonique/production bactérienne, et une consommation importante des bactéries par le protozooplancton, on ne sait pas si ce dernier est exploité de façon significative par les niveaux trophiques supérieurs.

En plus, une grande partie du COD assimilé par les bactéries reste perdu pour les niveaux trophiques supérieurs car le taux de respiration bactérien est assez élevé. Ce dernier est estimé à 50% dans les lacs (Petit 1997) et une valeur moyenne de 70% a été proposée par Barillier & Garnier (1983).

Ce qui amène à penser que la boucle microbienne peut être plus importante en tant que processus de recyclage rapide des nutriments que dans le transfert du carbone.

## 2.5. Résumé de la littérature

En conclusion, la lyse est reconnue être un facteur de perte important, à côté du grazing et de la sédimentation, en milieu marin.

Son deuxième rôle intervient suite à la rupture cellulaire qui libère les constituants internes des algues dans le milieu. Ces constituants, et principalement la matière organique dissoute,

vont être disponibles pour la minéralisation bactérienne, conduisant à une augmentation de la production bactérienne, laquelle à son tour va stimuler l'activité de grazing des HNFs et de tout le réseau trophique microbien. L'augmentation de la production bactérienne et de l'activité de broutage du zooplancton peuvent également stimuler la régénération des nutriments, laquelle en condition limitante d'azote ou de phosphore, peut affecter les successions d'espèces au sein du phytoplancton. Ce rôle de la lyse comme source importante de matières organiques pour la boucle microbienne a été prouvé en milieu marin.

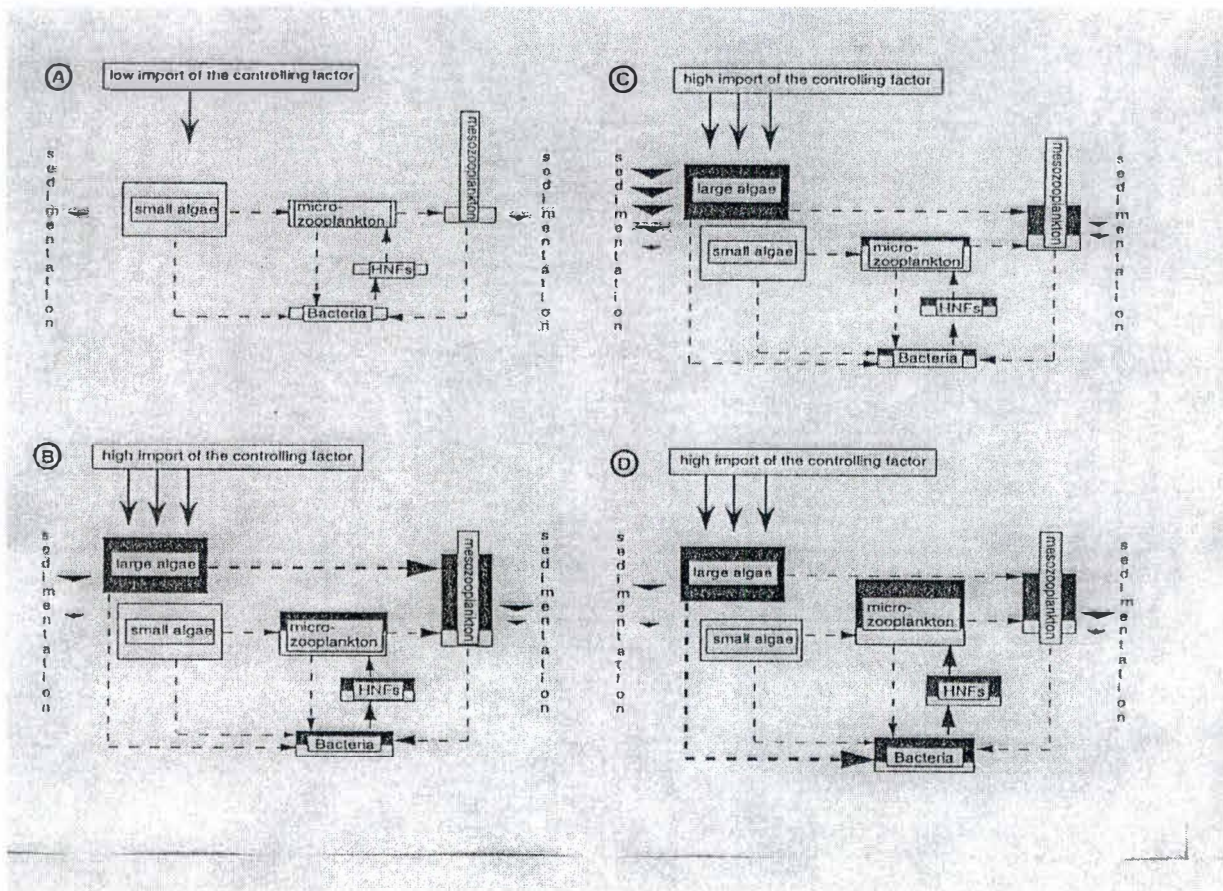


Figure 5 : Flux théorique de carbone (flèche) en relation aux différents taux d'apport des facteurs contrôlant le réseau pélagique. Les boîtes représentent la biomasse de chaque groupe fonctionnel. Les phototrophes sont divisés en deux classes de taille :

petite (<20µm) et grande (>20µm). Le zooplancton est divisé en micro-(<200µm) et mésozooplancton (>200µm). Les HNFs sont considérés comme les prédateurs spécifiques des bactéries hétérotrophes.

La respiration et la prédation à chaque niveau trophique sont exclus dans un souci de clarté. Dans un écosystème oligotrophe (A), l'apport du facteur de contrôle est faible et la majorité de l'énergie fixée est consommée par le microzooplancton dans la zone photique. Dans un milieu eutrophe l'apport des facteurs de contrôle est grand (B-D), ce qui conduit à des blooms algaux. Ceux-ci déclinent via le grazing (B), la sédimentation (C) ou la lyse algale (D). Les trois facteurs de perte affectent le flux de carbone de l'écosystème de différentes façons.

D'après Brussaard C., 1997, PhD Thesis p.16.

En milieu fluvial, aucun de ces rôles de la lyse n'a encore été démontré, même si on sait que la production primaire nette est significativement corrélée à la production bactérienne qu'une partie du carbone algal se retrouve dans la biomasse bactérienne. On sait également que le carbone dissous excrété par les algues n'est pas la source majeure de carbone dissous d'origine phytoplanctonique. On ne peut que supposer que la lyse des cellules algales et le « sloppy feeding » soient des sources majeures de ce carbone phytoplanctonique assimilé par les bactéries.

### 3. OBJECTIF DU MEMOIRE

Ce travail, s'inscrit dans le cadre plus large du programme FRFC ( Fonds de la Recherche Fondamentale Collective ) sur l'étude des relations trophiques au sein du plancton en milieu fluvial et de la boucle microbienne. Cette étude s'étend sur quatre ans en ayant débuté en 1999-2000.

Ce travail de fin d'études s'est focalisé sur le processus de lyse phytoplanctonique et son importance dans le déclin des efflorescences algales. Le mémoire a principalement deux objectifs : une mise au point méthodologique de la mesure de la lyse algale et l'application de cette méthode lors des blooms de phytoplancton de printemps. Le but est de quantifier la mortalité algale et de voir dans quelle mesure, au côté de l'excrétion, elle contribue à la demande en carbone des bactéries.

## II. MATERIEL ET METHODES

## 1. LE MILIEU ETUDIE

### La Meuse

Les prélèvements ont été réalisés dans la Meuse à Tailfer, se trouvant à 521 kilomètres de la source du fleuve située à Pouilly en Bassigny dans l'Est de la France. Les données de débit, fourni par la Compagnie Intercommunale Bruxelloise des Eaux (CIBE), proviennent également de Tailfer. Le débit de la Meuse fluctue selon les précipitations tombées sur son bassin, c'est pourquoi le débit de ce fleuve à régime pluvial typique est soumis à de fortes fluctuations. En hiver, le débit oscille entre 800 et 1200 m<sup>3</sup> par seconde tandis qu'en été les valeurs se situent dans une fourchette de 30 à 80 m<sup>3</sup>/sec pour atteindre en période de sécheresse exceptionnelle des débits de 10 m<sup>3</sup>/sec (Descy, 1992).

La longueur totale de la rivière est de 885 km et son bassin versant occupe environ 36.000 km<sup>2</sup> dont 40% en Belgique (Fig.6). La Meuse rejoint le Rhin au Pays-Bas et forme avec lui un delta qui débouche dans la Mer du Nord. La Meuse à des eaux alcalines, riches en nutriments.

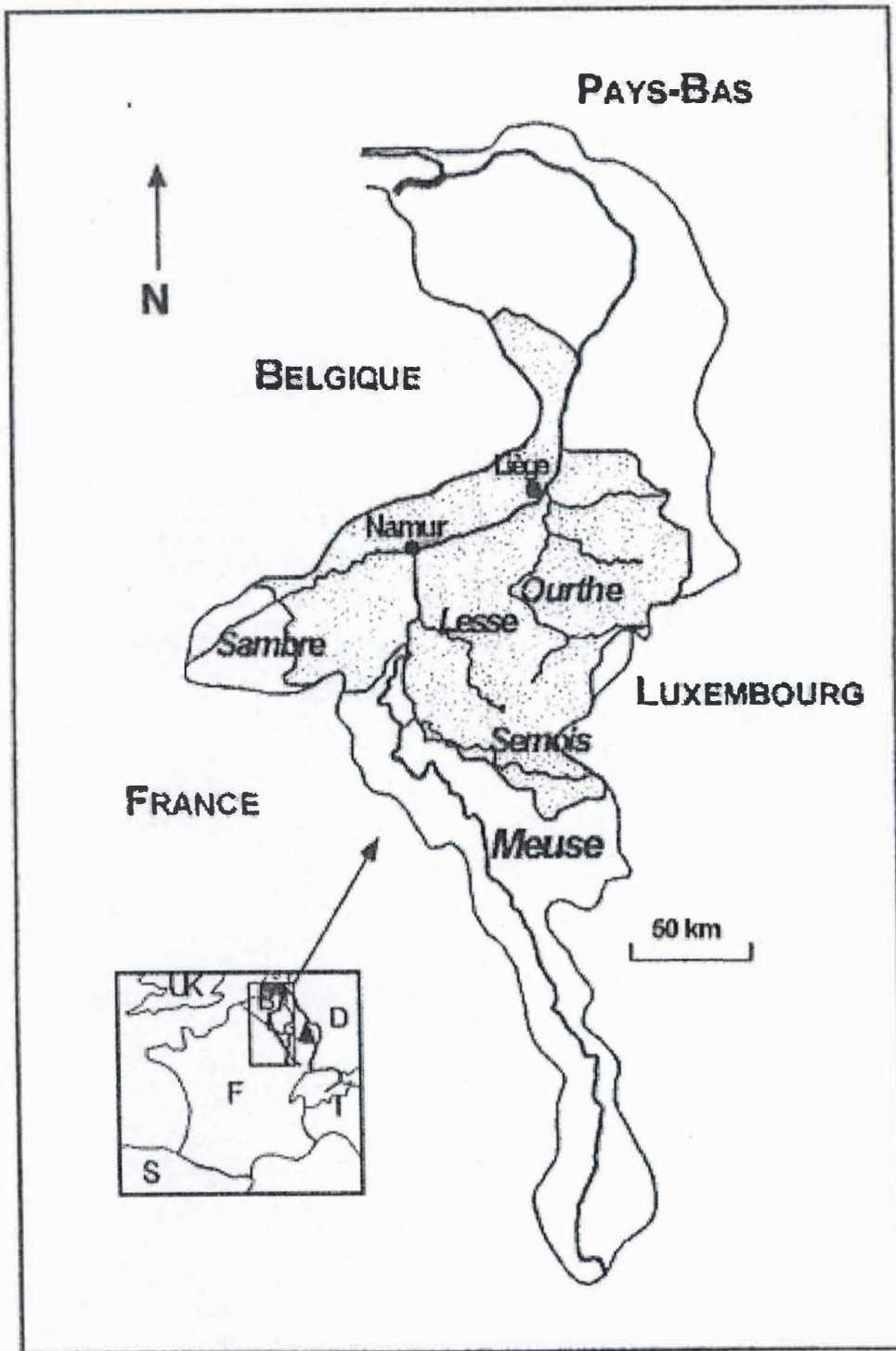


Figure 6 : carte du bassin versant de la Meuse.

## 2. PRELEVEMENT ET CONSERVATION DES COMMUNAUTES PLANCTONIQUES

### 2.1. Le phytoplancton

L'échantillonnage hebdomadaire a été réalisé au centre de la rivière à partir de la passerelle surplombant le barrage de l'écluse de Tailfer. L'eau de surface est prélevée à l'aide d'une bouteille de Van Dorn de deux litres, et versée dans un bidon de vingt litres en vue du transport. Le bidon est ensuite ramené au laboratoire où sont effectués les mesures d'activité estérasiqye endéans une heure après le prélèvement. Au laboratoire, le bidon est stocké dans un incubateur (Aqualytic FKS 1802) réglé sur la température du jour de l'eau de Meuse.

Plus ou moins quarante ml d'eau brute sont fixée avec une solution de Lugol en vue de la détermination des taxons majeurs de phytoplancton.

Deux échantillons de 10 ml sont aussi fixés à l'aide de Lugol. Le dénombrement des cellules algales parasitées par les champignons a été réalisé, après concentration par sédimentation, en utilisant un microscope inversé Leitz Laborlux D en contraste de phase avec une combinaison optique 10 x 100. La proportion d'algues parasitées comptée sera appliquée telle quel à la biomasse algale total. Cette grossière approximation permettra juste de juger l'influence potentielle du parasitisme sur la lyse du phytoplancton.

Une mise en culture d'un échantillon de phytoplancton de Meuse a également été réalisée. Cet échantillon, collecté en période de « bloom » de *Stephanodiscus cf. hantzschii*, a été concentré sur un tamis en Nylon de 10 µm ; les cellules ont été remises en suspension et cultivées dans de l'eau de Meuse, filtrée sur GF/C, autoclavée et enrichie selon Canter & Jaworski (1988).

Une culture pure d'algue vertes (*Chlorella vulgaris*) disponible au laboratoire est aussi utilisée en vue de la réalisation des expériences de laboratoire.

Les cultures ont été placées dans un incubateur thermostatisé avec un cycle lumière : obscurité de 16 : 8h. Des volumes d'un litre sont ensemencés dans des fioles de verre autoclavées et doucement agitées en vue de la réalisation des expériences de laboratoire.

## 2.2. Le métazooplancton

Le métazooplancton est prélevé à l'aide d'une trappe de Schindler de 10 litres. Ce système dont une des parois latérale est munie d'un manchon de 63  $\mu\text{m}$  de vide de maille dans lequel le contenu de la trappe se dévide, concentre le plancton. On réalise plusieurs échantillonnages sur la largeur de la rivière pour concentrer finalement un volume d'eau de 120 l.

Le plancton concentré est récupéré dans un faible volume d'eau et fixé au Lugol acidifié selon Leakey et al. (1994).

De retour au laboratoire, ce plancton prélevé est mis à sédimenter dans des flacons en verre. Une fois la sédimentation achevée on concentre le culot, contenant tout le plancton, dans un volume facilitant le futur comptage. Par exemple si on a prélevé 120 l d'eau, on tâchera de concentrer le tout dans 24 ml : de cette manière 1 ml compté correspond à 5 l d'eau.

Les analyses qualitatives et quantitatives du métazooplancton ont été réalisées au microscope inversé Leitz Laborlux D à un grossissement de 100x. Les rotifères ont été déterminés au genre ou à l'espèce tandis que les crustacés ont été comptés globalement, comme cladocères ou copépodes.

## 2.3. Analyse complémentaire

Rappelons que ce mémoire s'inscrit dans le cadre du projet FRFC qui vise l'étude des relations trophiques au sein du plancton fluvial et en particulier l'étude de la boucle microbienne.

Donc toutes les communautés planctoniques doivent être échantillonnées et conservées pour les différentes études menées dans ce projet, même si l'analyse des résultats et l'interprétation de l'ensemble ne rentre pas dans le cadre de ce mémoire.

Cette année, j'ai eu la chance de travailler avec un collègue Pirlot Samuel travaillant également pour le projet FRFC. Samuel s'est lui intéressé aux interactions entre le bactérioplancton et le protozooplancton. Ceci a permis de subdiviser le travail : je me suis occupé du prélèvement et du conditionnement des communautés algales et métazooplanctoniques, Samuel s'occupant du protozooplancton et des bactéries.

### 3. METHODES ANALYTIQUES

#### 3.1. Mesure de la chlorophylle a et des pigments

L'estimation de la biomasse algale présente dans le milieu est réalisée via la quantification de la chlorophylle *a*. Pour ce faire, deux techniques ont été utilisées :

##### 3.1.1. *Dosage de la chlorophylle a en spectrophotométrie*

Un volume connu d'eau de Meuse est filtré sur un filtre GF/C Whatman. Le filtre est placé dans un tube à essai contenant 7 ml de solvant composé dans les proportions 5 : 1 d'acétone 90% et de méthanol pur. L'extraction des pigments chlorophylliens se fait pendant deux minutes à 65°C. Une bille de métal est apposée au sommet du tube afin de limiter les pertes en solvant au cours de l'ébullition.

Ensuite, le tube est centrifugé 5 minutes à 3000 r.p.m. à une température de 8°C. Ceci afin d'une part de refroidir le tube et d'autre part de sédimenter les particules susceptibles de fausser la lecture au spectrophotomètre.

Trois millilitres de l'extrait sont transvasés dans une cuvette en verre et l'absorbance est mesurée à 665 nm avant et après acidification à l'HCL de l'extrait (100 µl d'HCL 0,1 N pour 3 ml d'extrait). La lecture de l'absorbance après acidification permet de supprimer l'erreur due à la présence éventuelle de pigments chlorophylliens dégradés (Lorenzen , 1967).

La concentration en chlorophylle *a* est ensuite calculée sur base des équations de Lorenzen (1967) adaptées par Marker *et al.* (1980) :

$$\text{Chl } a \text{ (}\mu\text{g/l)} = (\text{Db}-\text{Da}).27.\frac{\text{v}}{\text{V.L}}$$

Db = la densité optique avant acidification

Da = la densité optique après acidification

v = le volume de solvant (ml)

V = le volume d'eau filtré (l)

L = la longueur du trajet optique (cm)

La biomasse algale peut être exprimée en unités carbone en multipliant les valeurs de chlorophylle *a* par 37 pour la Meuse (Descy & Gosselain, 1994).

Cette technique simple et rapide a été principalement utilisée comme mesure de la biomasse phytoplanctonique le jour du prélèvement.

### 3.1.2. Dosage des pigments chlorophylliens et caroténoïdes en HPLC

Cette méthode plus longue est par contre plus précise dans l'estimation de la biomasse algale et de la contribution des différentes classes d'algues au phytoplancton.

A partir de l'eau de Meuse prélevée, on va constituer trois fractions phytoplanctoniques par des filtrations successives de l'eau brute sur des filtres en Nylon de vide de maille de 10 et 28  $\mu\text{m}$ . Il y aura donc la fraction inférieure à 28  $\mu\text{m}$ , celle inférieure à 10  $\mu\text{m}$  et une fraction dite totale qui n'est pas filtrée.

Des volumes connus de chaque fraction sont filtrés sur des filtres GF/C. Les filtres sont placés dans des fioles à scintillation et sont conservés au congélateur jusqu'à l'extraction.

Après décongélation, les filtres sont recouverts de 10 ml d'acétone 90%. Les fioles sont alors « soniquées » un quart d'heure dans un bain de glace et d'eau. Elles reposent ensuite une nuit à 24 heures au congélateur avant d'être une nouvelle fois « soniquées » 15 minutes. Les extraits obtenus sont filtrés sur des cartouches filtrantes de type Millex-GV13 de 0,22  $\mu\text{m}$  de porosité et sont placés dans des fioles en verre sombre de 3 ml.

Les extraits sont maintenant prêts à être analysés en HPLC. La gestion de l'appareillage, en vue de la séparation des pigments, a été confiée au technicien Bruno Leporcq.

L'interprétation de la concentration des différents pigments phytoplanctoniques a été réalisée au moyen du programme CHEMTAX. Ce programme permet d'estimer une biomasse en équivalents-chlorophylle *a* pour les différentes classes d'algues à partir des pigments marqueurs de ces classes, sur base d'une optimisation des rapports pigments/chl *a*. Ces rapports sont introduits par l'expérimentateur dans une matrice initiale ; le programme produit en fin de traitement une matrice finale de rapports optimisés pour le jeu de données et les biomasses en chlorophylle *a* des différentes classes d'algues.

CHEMTAX est un outil puissant, qui permet de tenir compte de pigments marqueurs partagés entre plusieurs classes d'algues, ainsi que des variations éventuelles des rapports pigmentaires

qui sont susceptibles d'être influencés par des facteurs environnementaux, les conditions de croissance des algues et les concentrations en nutriments (Descy *et al.*, 2000).

Le cas de la Meuse est assez simple vu la faible diversité de catégories phytoplanctoniques.

Les pigments marqueurs utilisés dans nos traitements sont :

- pour les diatomées, la fucoxanthine et la diadinoxanthine
- pour les Chlorophycées, la lutéine, la chlorophylle b, la violaxanthine, la néoxanthine et la zéaxanthine
- pour les Cryptophycées, l'alloxanthine et l'alpha-carotène
- pour les Dinophycées, la péridinine et la diadinoxanthine
- pour les Cyanobactéries, la zéaxanthine (aussi présente chez les Chlorophycées mais en proportion moindre).

### 3.2. Biomasse et grazing du métazooplancton

La biomasse carbonée du métazooplancton est estimée comme suit : on multiplie la densité de chaque espèce par sa valeur de poids sec trouvée dans la littérature, ensuite on considère que le contenu corporel en carbone égal 50% de cette valeur.

Aucune expérimentation n'a été faite pour estimer le grazing, ceci ne rentrant pas dans le cadre du mémoire. Néanmoins une valeur des pertes algales par le broutage a pu être calculée, ceci grâce à une méthode de calcul du grazing *a posteriori* proposée par Gosselain (1998), sur base de mesures de grazing en Meuse et en cultures pures.

Cette méthode *a posteriori* se base sur les densités des représentants du zooplancton, sur la biomasse algale consommable et la température. Une valeur d'ingestion à concentration saturante en nourriture (tableau 1), pour les principales espèces rencontrées en Meuse, est donnée par cette méthode. Cette valeur variant en fonction de la température selon un  $Q_{10}$  de 2. Les détails sur cette méthode peuvent être trouver dans Gosselain (1998).

Espèces	Ingestion maximale (20°C) (ngC/ind.h)
<i>B.calyciflorus</i>	17,5
<i>K.cochlearis</i>	15
Autres rotifères	26
<i>Nauplii</i>	4

Tableau 1 : Ingestion maximale à 20°C utilisées pour le calcul *a posteriori* du broutage.

### 3.3. Analyses physico-chimiques

Tout au long de la période d'étude, un certain nombre de paramètres environnementaux ont été mesurés en parallèle avec les prélèvements de phytoplancton :

#### 3.3.1. *Substances nutritives dissoutes*

Les dosages ont été réalisés sur de l'eau de Meuse filtrée sur GF/C. L'eau filtrée est conservée au congélateur (-20°C) jusqu'à l'analyse.

Le principe général du dosage des nutriments consiste en la détermination spectrophotométrique de complexes colorés. Les différentes réactions sont reprises ci-dessous.

#### Dosage de l'ammonium :

La méthode photométrique au bleu d'indophénol est utilisée pour la détermination de l'ammonium. En milieu basique, l'ammonium est convertit en monochloramine par réaction avec l'hypochlorite de sodium. Après addition de phénol en présence de nitroprussiate de sodium (catalyseur), l'absorbance du complexe bleu d'indophénol formé est mesuré à 655 nm.

#### Dosage des nitrates et nitrites :

Les nitrates sont réduits en nitrites par agitation sur du cadmium spongieux. Les nitrites sont ensuite complexés par diazotation avec du sulfamide et couplage avec du dichlorure de N-Naphtyl diamine en milieu acide. Le complexe pourpre formé est susceptible d'un dosage colorimétrique à 520 nm.

#### Dosage des ortho-phosphates :

En milieu acide et en présence de molybdate d'ammonium, les ortho-phosphates donnent un complexe phosphomolybdique qui, lorsqu'il est réduit par l'acide ascorbique, développe une coloration bleue dosée, après 20 minutes de réaction, par spectrophotométrie à 885 nm.

### 3.3.2. Paramètres généraux

#### Température, pH et oxygène dissous :

Le pH est mesuré sur le terrain à l'aide d'un pH-mètre WTW 323-A, l'oxygène dissous via un oxymètre YSI model 58. Quant à la température elle est lue sur l'un des deux appareils susnommés.

#### Alcalinité :

L'alcalinité de l'eau est mesurée au laboratoire par titration de 50 ml d'eau filtrée sur GF/C par de l'HCL 0,02 N, en présence d'un indicateur virant à pH 4. On mesure donc la somme des ions  $[\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-} + \text{OH}^-]$  jusqu'à neutralisation complète, c'est-à-dire quand tout le carbone inorganique est sous forme de  $\text{CO}_2$  (à pH 4).

### 3.3.3. Transparence de l'eau

Elle est mesurée sur le terrain grâce à un dispositif comprenant deux quantamètres connectés à un « data logger ». Le premier, un senseur LI-COR 190 SB, sert de référence en surface et

fournit l'éclairement incident ( $I_0$ ). Le deuxième, un senseur LI-COR SPQA 2021 mesure l'éclairement dans l'eau à différentes profondeurs ( $I_z$ ).

Le coefficient d'extinction ( $K$ ) de la lumière est obtenu par la formule :

$$K = (\ln I'_0 - \ln I_z) / z$$

Avec  $I'_0$  = éclairement sous la surface (intensité incidente  $I_0$  diminuée de la réflexion)

$$I'_0 = I_0 \cdot 0,95$$

$I_z$  = éclairement à la profondeur  $z$

$z$  = profondeur en mètres

#### 4. PRODUCTION PRIMAIRE

On mesure la production primaire sur le terrain par des incubations de surface d'eau de Meuse additionnée de  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ . On prépare 18 bouteilles contenant chacune 100 ml d'eau de Meuse brute. On ajoute à ces bouteilles 12,5  $\mu\text{Ci}$  de bicarbonate marqué et, après homogénéisation, on les expose dans un système d'incubation immergé juste sous la surface, à des éclairagements relatifs dans la gamme 0-100% de la lumière solaire *in situ*. L'incubation dure entre 1 et 2 h en fonction des conditions de luminosité, le tout étant de laisser incuber suffisamment longtemps afin que les algues puissent assimiler le carbone radioactif. On arrête l'incubation par addition de 2 ml de formol 2% neutralisé dans chacune des bouteilles.

Le contenu de chaque bouteille est ensuite filtré sur filtres Whatman GF/C. Afin d'enlever toute trace de carbone inorganique radioactif, les filtres sont acidifiés par rinçage à l'HCL 0.1 N. Les filtres sont ensuite placées dans des fioles à scintillation auxquelles on rajoute 10 ml de liquide scintillant Lumasafe plus. Afin de mesurer la radioactivité introduite, 3 témoins sont également mesurés : on prélève 250  $\mu\text{l}$  de l'eau marquée par témoin que l'on place dans une fiole à scintillation en présence de 250  $\mu\text{l}$  de phényléthylamine et du liquide scintillant. La radioactivité de chaque filtre ainsi que des témoins est mesurée par comptage au compteur à scintillation Beckman LS 6000 SC.

$$C \text{ assimilé} = \frac{X - Y}{X_0 \cdot V} \cdot [C \text{ inorganique total}] \cdot Z \cdot \frac{1}{t}$$

$X$  = activité d'un filtre (dpm)

Y = activité du filtre correspondant à la bouteille sombre\* (dpm)

X<sub>0</sub> = activité initiale en dpm (témoin)

V = volume de l'échantillon filtré (ml)

Z = facteur de discrimination isotopique, qui vaut 1,06.

t = temps d'incubation (h)

\* L'incorporation de C<sup>14</sup> à l'obscurité, due à la fixation non photosynthétique de C inorganique, a été évaluée par incubation d'une bouteille sombre et soustraite des résultats de chaque bouteille.

Une fois l'assimilation de carbone connue, on va calculer la production primaire journalière qui se base sur la relation photosynthèse-lumière (P-L). Les courbes ont été ajustées aux points expérimentaux au moyen du logiciel Statistica et selon la formule, déjà citée, de Vollenweider simplifiée. Pour chaque journée, on aura donc une courbe P-L caractérisée par les deux paramètres P<sub>max</sub> (taux de photosynthèse à saturation) et I<sub>k</sub> (intensité lumineuse au « seuil de la saturation »).

La production brute journalière sur l'entièreté de la colonne d'eau a été calculée à partir des variations journalières d'éclairement comme décrit dans Descy *et al.* (1987) :

$$PBJ = \int_0^d \int_r^s 2 P_{max} \frac{I(z,t) / 2 I_k}{1 + [I(z,t) / 2 I_k]^2} dt dz$$

Avec d = la profondeur de la colonne d'eau (dans notre cas 4 mètres)

r et s = les heures de lever et de coucher du soleil.

Les valeurs de l'éclairement sur l'ensemble du spectre lumineux pour chaque demi-heure sont fournies par l'Institut Royal de Météorologie (IRM). Ces données sont converties pour correspondre au rayonnement photosynthétiquement actif (PAR) et minorées de 5% pour tenir compte de la réflexion de la lumière en surface.

Avec ces données et les valeurs du coefficient d'extinction de la lumière, on calcule donc l'intensité lumineuse à toutes les profondeurs de la colonne d'eau et sur toute la journée ce qui nous permet finalement de calculer la production brute journalière.

Afin de s'assurer que les intensités lumineuses mesurées à l'aide de notre sonde correspondent bien aux valeurs de l'IRM, nous avons réalisé une intercalibration entre les

valeurs mesurées *in situ* par la sonde LI-COR 190 SB et les valeurs IRM correspondantes. Après la conversion des unités de mesure (comme ci-dessus), le rapport « donnée IRM/donnée sonde » a été calculé. Au lieu de trouver un rapport moyen proche de l'unité, celui-ci était de 2,1. Il est donc vraisemblable que la sonde LI-COR était incorrectement calibrée, et nous avons corrigé les valeurs mesurées *in situ* en conséquence.

La respiration algale est déterminée à partir de Pmax selon la relation suivante (Descy *et al.*, 1994) :

$$r = (0,046 \times P \text{ max}) + 0,073 \quad (\text{mg C/mg chl a.h})$$

La croissance algale ( $\mu$  en /j) a été calculée selon la relation :

$$\mu = \ln (1 + PN/B)$$

où Pn = la production algale nette (mg C/m<sup>2</sup>.j)

B = la biomasse algale (mg C/m<sup>2</sup>), calculée à partir de la concentration en chl a

## 5. MESURE DU TAUX DE LYSE CELLULAIRE

Le taux de lyse cellulaire phytoplanctonique est estimé à partir de la mesure d'activité estérasique dissoute dans le milieu en utilisant la technique fluorimétrique décrite par Van Boekel *et al.* (1992).

### 5.1. Mesure de l'activité estérasique dissoute (AED)

#### 5.1.1. *Principe de la méthode*

Ce protocole de mesure de l'AED est adapté de celui de Van Boekel *et al.* (1992) et Agusti & Duarte (2000). L'activité estérasique dissoute (AED) est mesurée par méthode fluorimétrique qui consiste en l'utilisation d'un substrat libérant une molécule fluorescente après hydrolyse par les estérases dissoutes. Le substrat fluorogénique utilisé est le fluorescéine-diacétate (FDA). La molécule fluorescente libérée par l'hydrolyse est la fluorescéine (Fig. 7). L'accumulation de fluorescéine dans l'échantillon s'accroît avec l'augmentation de la

concentration en FDA selon une cinétique enzymatique de Michaelis-Menten (Rotman & Papermaster, 1966).

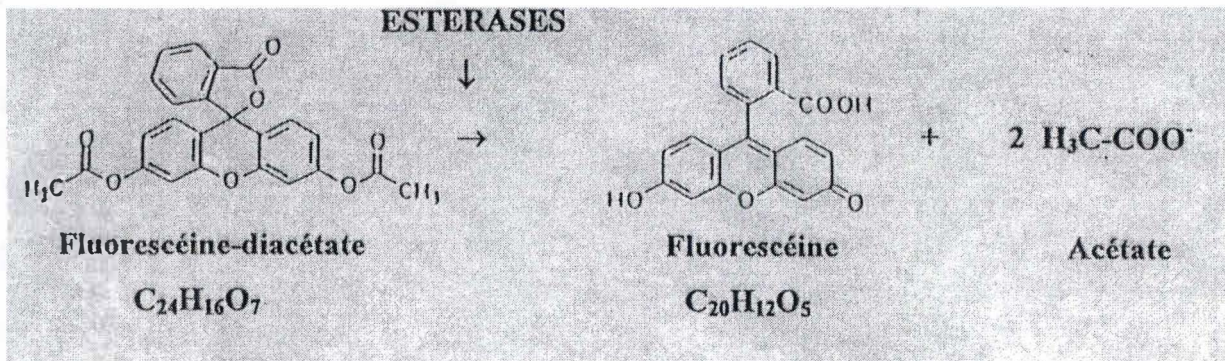


Figure 7 : réaction d'hydrolyse du FDA par les estérases.

### 5.1.2. Mode opératoire

- 4 ml d'échantillon (filtrat, sonicat) sont transvasés en triplicat dans des cuvettes en plastique, auxquelles on ajoute :

- ° 40 µl de tampon Hepes 0,8 M (pH 7,9) afin que la réaction se déroule toujours dans les mêmes conditions de pH.
- ° 40 µl d'acide éthyldiaminotétracétique sodique (Na<sub>2</sub>EDTA) 20 mM pour stabiliser la mesure de fluorescence dans l'eau.
- ° 40 µl de substrat fluorogénique, soit de FDA 2 mM préparé dans de l'acétone 100%.

Na<sub>2</sub>EDTA et Hepes sont préalablement filtrés sur des filtres Acrodisc® 0,2 µm (GelmanSciences) afin d'éviter toute contamination bactérienne.

- Les cuvettes sont ensuite agitées puis placées à l'obscurité à 25°C pendant 1 heure, le temps que se réalise la réaction d'hydrolyse.
- Après réaction, la fluorescence relative développée est mesurée à longueur d'onde d'excitation et d'émission respectivement de 470 et 514 nm (fluorimètre LS-5B, Perkin-Elmer). Ces longueurs d'ondes correspondent au maximum d'excitation et d'émission de la fluorescéine. Une recherche de ces longueurs d'ondes maximales a été au préalable réalisée.

### 5.1.3. Droite de calibration

La standardisation de l'AED permettant de convertir les unités de fluorescence relative en unités d'activité enzymatique (nmol FDA/l.h) est réalisée avec des solutions de concentration connue (0-500nM) de la molécule fluorescente libérée dans la matrice saline par l'hydrolyse du FDA par les estérases en une heure. Une solution de fluorescéine sous forme sodique ( $C_{20}H_{10}O_5Na_2$ ) 20mM est préparée dans de l'eau ultrapure déminéralisée. Une solution mère de 20  $\mu$ M permet la préparation des solutions d'étalonnage. L'eau utilisée pour la dilution est filtrée sur Acrodisc de porosité 0,2 $\mu$ m et additionnée de Na<sub>2</sub>EDTA 200  $\mu$ M final et de tampon Hepes 8 mM final.

Une droite de calibration a été réalisée aux longueurs d'ondes maximales d'excitation et d'émission. Une autre a été faite à une longueur d'onde d'émission de 580 nm, ce qui permet la mesure dans une gamme d'activité estérasique plus élevée (Fig.8).

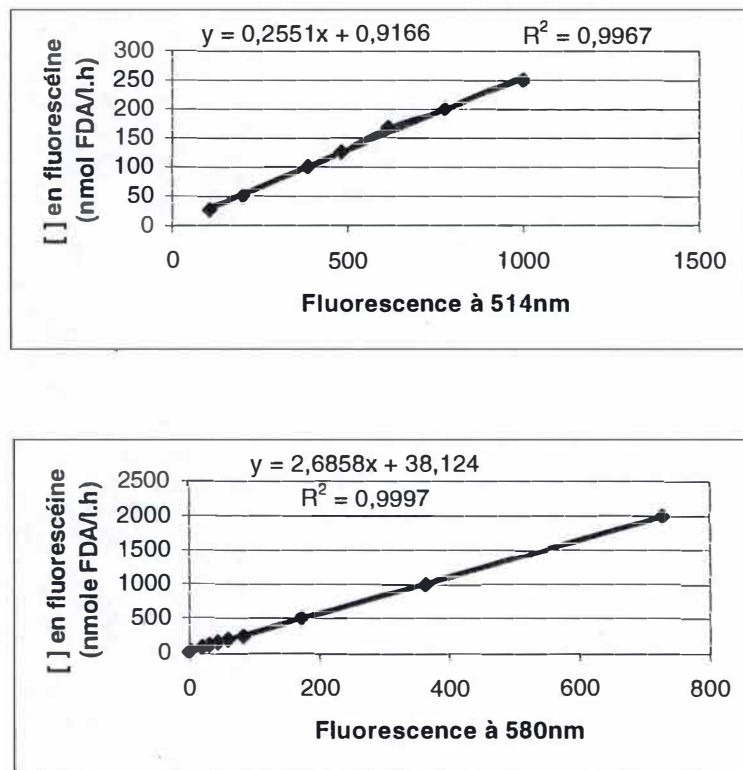


Figure 8 : Droites de calibration.

## 5.2. Calcul du taux de lyse cellulaire journalier

Ce protocole de calcul est tiré d'une méthode proposée par Agusti & Duarte (2000) basée essentiellement sur le suivi de la dégradation de l'AED.

Cette méthode est basée sur l'hypothèse que, à l'échelle de quelques heures, la production et la perte d'activité d'AED devraient être en équilibre dynamique. Suivant ces auteurs, le protocole est le suivant :

1. On réalise, à chaque campagne de mesure, un suivi de la perte d'activité enzymatique, de façon à établir la courbe de décroissance exponentielle correspondante, qui permet de déterminer le taux de perte d'AED :

$$\mu_{(\text{perte})\text{AED}} (\text{h}^{-1}) = \ln(\text{AED}_0/\text{AED}_t)/t$$

et la demi-vie de l'AED dans le milieu :

$$T_{0,5} (\text{h}) = \ln(0,5)/\mu_{(\text{perte})\text{AED}}$$

Pour ce faire, dès le retour du terrain, une centaine de ml sont délicatement filtrés sur un filtre de porosité 2  $\mu\text{m}$  afin d'enlever le plancton (pour éviter tout apport d'estérase pendant l'expérience) tout en gardant les bactéries. Ce filtrat est conservé à la température de l'eau de Meuse et une mesure de l'AED est réalisée toutes les heures sur un minimum de 4 h afin d'obtenir une courbe exponentielle décroissante.

2. Le taux de production d'AED ( $\text{AED}_{\text{prod}}$  en  $\text{nmol FDA/l.h}$ ) est calculé à partir de la valeur de  $T_{0,5}$  issue du taux de dégradation calculé ci-dessus et de la valeur d'AED mesurée dans le milieu (voir § 4.5.1.) :

$$\text{AED}_{\text{prod}} = 0,5.\text{AED}/T_{0,5}$$

3. Au final, le taux de lyse du phytoplancton ( $\mu_L$  en  $\text{h}^{-1}$ ) est obtenu comme suit :

$$\mu_L = \ln(AEI - AED_{\text{prod}}/AEI)/h$$

où AEI = l'activité estérasiqne interne (du phytoplancton) en nmol FDA/l.h

Le taux de lyse horaire journalier s'obtient en multipliant  $\mu_L$  par 24.

On remarque que l'estimation du taux de lyse repose sur la diminution de l'AEI au cours du temps suite à la production d'AED lors de la lyse.

L'AEI propre aux cellules phytoplanctoniques est habituellement déterminée dans des cultures en phase de croissance exponentielle. La mesure en parallèle de la Chl a permet le calcul des contenus enzymatiques de la biomasse algale exprimés en AEI/Chl a. Pour avoir l'AEI/C, il suffit de multiplier la Chl a par 37. Les estérases intracellulaires sont mises en solution par lyse mécanique des cellules. Pour ce faire, on a utilisé la technique de sonication. La recherche du temps et de la puissance de sonication permettant de lyser toutes les cellules a été réalisée sur une culture de diatomées. Les résultats montrent qu'une lyse complète est réalisée sur 80 pendant 40s à l'aide d'un sonicateur Virsonic modèle n° 150 (le manuel d'utilisation étant perdu, on ne connaît pas la puissance en W correspondant à 80). Ce résultat est confirmé par une analyse microscopique montrant que toutes les cellules ont été lysées. Pour éviter une destruction thermique des estérases, la sonication se déroule dans un bain de glace.

### III. RESULTATS

La méthode développée dans le chapitre 4.5. a été appliquée sur des échantillons naturels prélevés à Tailfer lors des efflorescences algales de printemps. L'objectif de cette étude est de quantifier la mortalité phytoplanctonique due à la lyse, d'estimer le flux de carbone correspondant et de tirer des hypothèses quant aux facteurs de contrôle de cette lyse. A cette fin, le processus de lyse a été mesuré tout au long des différentes successions planctoniques de printemps. Ces mesures accompagnent le suivi hebdomadaire de la production primaire, des biomasses planctoniques et des paramètres physico-chimiques ainsi que le dénombrement des cellules algales parasitées par des champignons.

## 1. CARACTERISATION DU MILIEU

### 1.1. Débit et température

Cette année, les variations de débit sont typiques de ce que l'on rencontre généralement en Meuse (Fig.9) : des débits importants au sortir de l'hiver suivi d'une décroissance vers des valeurs d'étiage qui se maintiennent habituellement jusque septembre.

Cependant la période de débit importants et variables s'est maintenue plus longtemps (début mai) que d'habitude, suite aux fortes pluies du début de printemps.

Quant à la température de l'eau, elle augmente fort logiquement de manière croissante tout au long de notre période d'observation.

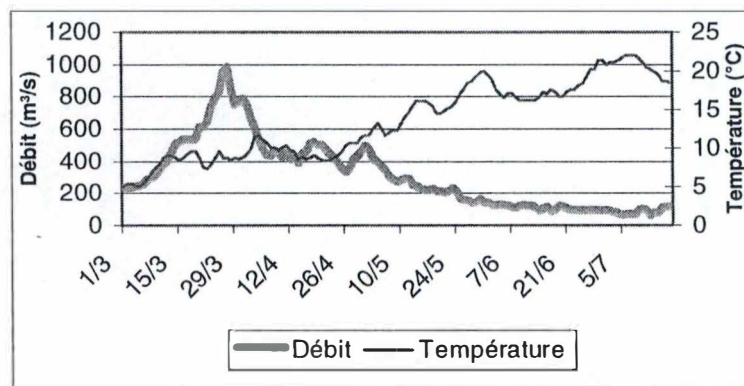


Figure 9 : Débit et température de l'eau, mesurés journalièrement dans la Meuse à Tailfer en 2001. Données de la Compagnie Intercommunale Bruxelloise des Eaux (CIBE), Tailfer.

## 1.2. Lumière dans la colonne d'eau

La variation de lumière dans la colonne d'eau présentée à la figure 9 a été obtenue en divisant le rayonnement photosynthétiquement actif (PAR) journalier moyen de la semaine (calculé d'après les mesures IRM) par la profondeur moyenne et le coefficient d'extinction vertical de la lumière mesuré une fois au cours de cette semaine.

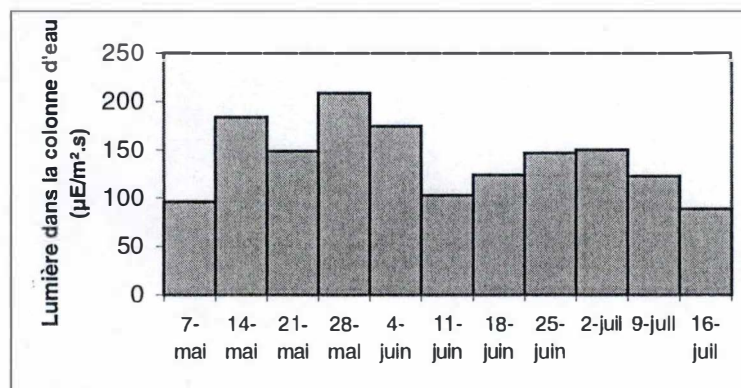


Figure 9 : Lumière disponible dans la colonne d'eau lors nos campagnes sur le terrain en 2001.

## 1.3. Paramètres chimiques

Le détail des résultats des mesures est présenté au tableau ci-dessous :

	07/05	14/05	21/05	28/05	05/06	11/06	18/06	25/06	03/07
<b>Oxygène (mg/l)</b>	12,3	13,3	13,6	12,1	11,8	11,3	9,5	10,3	10,8
<b>Oxygène (% saturation)</b>	117,7	140,3	138,4	134,0	113,7	118,4	101,8	113,7	125,7
<b>pH</b>	8,3	8,4	8,42	8,33	8,27	8,32	8,1	8,18	8,4
<b>Carbone inorganique dissous (mgC/l)</b>	-	35,91	36,16	37,13	37,04	38,48	-	34,85	34,23
<b>Silice (mg Si/l)</b>	1,0	0,7	2,4	2,9	3,8	4,4	2,6	1,8	1,9
<b>Ammonium (µgN/L)</b>	53,2	54,2	50,2	45,3	66,0	44,3	66,0	44,3	52,2
<b>Nitrites (µgN/L)</b>	8,1	12,0	6,2	7,3	10,4	12,0	15,4	14,3	16,5
<b>Nitrates (mgN/L)</b>	1,8	1,6	1,8	1,6	1,5	1,5	1,8	1,4	1,0
<b>P dissous (µgP/L)</b>	10,2	148,6	48,3	7,8	30,9	211,6	106,8	80,3	22,7

Tableau 2 : Paramètres chimiques mesurés au cours de nos campagnes sur le terrain.

Ces données correspondent aux valeurs habituelles pour la Meuse, celle-ci étant caractérisée par des eaux alcalines, riches en nutriments. Ceci s'explique bien par la nature des roches du bassin versant où les roches carbonatées sont bien représentées. La teneur élevée en nutriments s'expliquant aussi par les apports du bassin versant (N, Si) et par le rejet des eaux usées (principalement P). On peut affirmer que la concentration en nutriments n'atteint généralement pas un seuil en-dessous duquel la croissance algale serait limitée (Descy *et al.*, 1987). Même la concentration en silice, qui diminue fortement lors des blooms constitués majoritairement de diatomées, ne permet pas de conclure à une limitation par ce nutriment. La sursaturation de l'eau en oxygène et les pH élevés s'expliquent par la photosynthèse du phytoplancton, très abondant, et par le fait que nos mesures sont toujours réalisées pendant la journée.

## 2. LES DEVELOPPEMENTS PLANCTONIQUES DE PRINTEMPS

### 2.1. Composition du phyto- et du zooplancton

L'analyse des pigments en HPLC montre qu'au cours de la période échantillonnée, les diatomées sont dominantes. En terme de biomasse elles représentent 70 à 93% (avec une moyenne de 81%) de la biomasse totale exprimée en équivalent chlorophylle a. On retrouve ensuite les chlorophycées qui interviennent pour 4 à 40% (moyenne de 15%). Les autres groupes algaux sont les cryptophycées, les cyanobactéries et les dinophycées. Leurs nombres et biomasses sont nettement moins importants.

Cette tendance corrobore les observations faites les années précédentes dans le même secteur de rivière (Descy *et al.*, 1987 ; Gosselain *et al.*, 1994). Par exemple en l'an 2000, les diatomées et les algues vertes représentaient respectivement en moyenne 85 et 13% de la biomasse.

Cette année, suite au mois de mars et avril très pluvieux, le débit du fleuve était encore de 500 m<sup>3</sup>/s le 1 mai à Tailfer. Ceci explique pourquoi on observe seulement la première efflorescence algale à la mi-mai. Ce premier pic printanier est essentiellement dû à la multiplication de la petite diatomée centrique *Stephanodiscus hantzschii* GRUNOW qui se

développe habituellement quand les débits hivernaux diminuent et atteignent des valeurs de l'ordre de 200 m<sup>3</sup>/s. En outre, cette espèce, grâce à sa capacité à croître à faible éclaircissement et à basse température, est bien adaptée au milieu généralement turbide et turbulent des rivières. Début juin, un deuxième pic phytoplanctonique atteignant le maximum de biomasse observé (161 µg chl a/l) se produit. Le maintien d'un débit inférieur à 200 m<sup>3</sup>/s, le réchauffement des eaux, ainsi que le climat lumineux plus favorable, permet le développement des autres groupes algaux, notamment des algues vertes plus photophiles. Ces dernières représentent le 18 juin 40% de la biomasse algale.

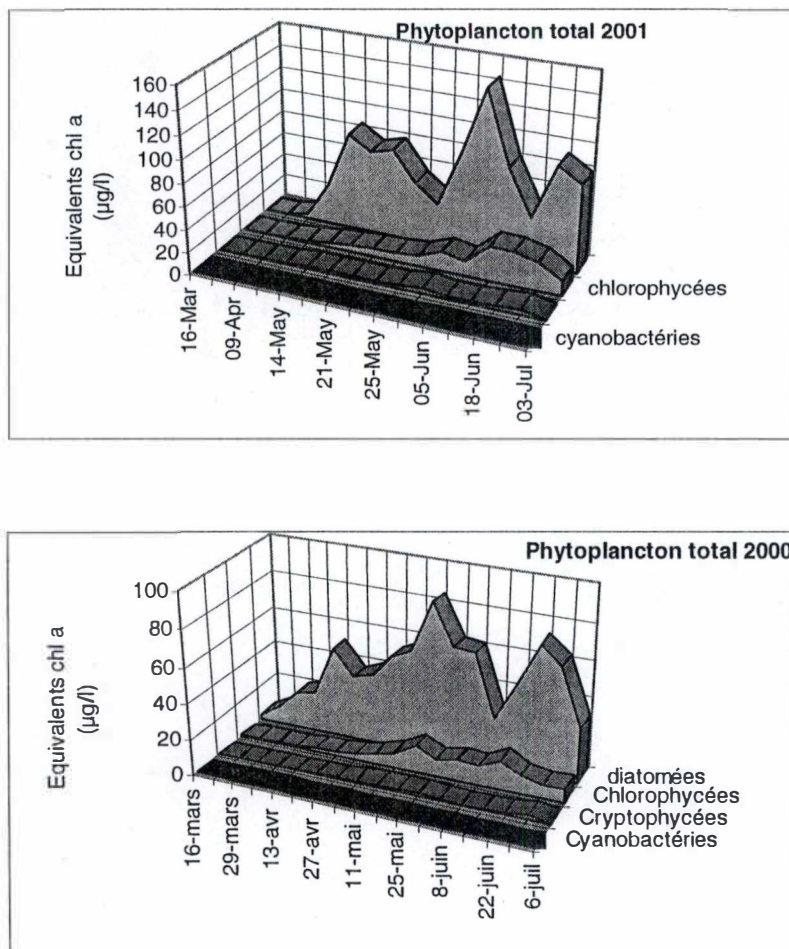


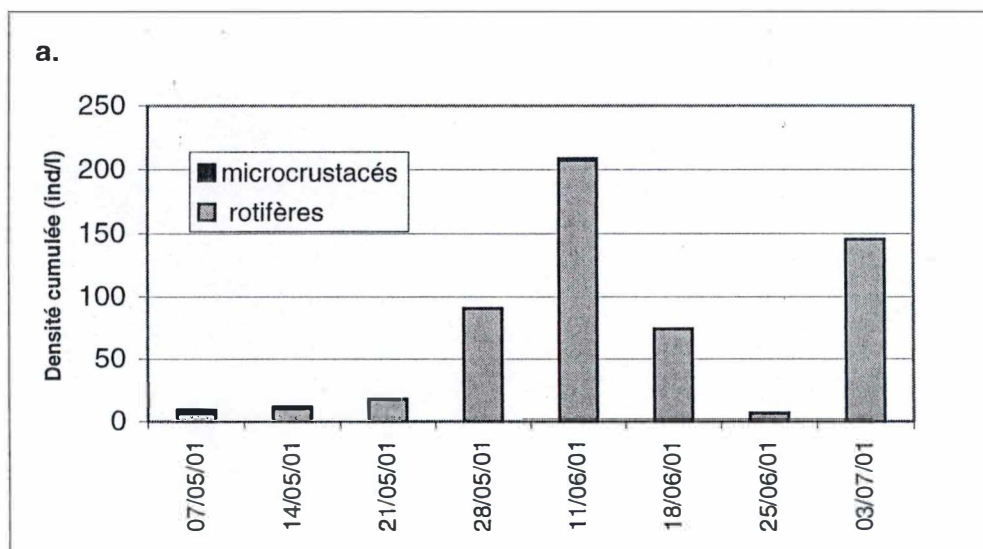
Figure 10 : Variation de biomasse des principaux groupes algaux dans la Meuse à Tailfer pour les années 2001 et 2000.

Pour le zooplancton, au moment de la rédaction de ce mémoire, la composition spécifique ainsi que la biomasse du protozooplancton n'est pas encore connue.

Comme pour le phytoplancton, l'apparition d'un développement du métazooplancton semble également lié aux conditions hydrologiques et météorologiques.

On remarque que ce sont les rotifères (fig 11 a), se reproduisant rapidement, qui dominent grandement le métazooplancton. En raison de leur temps de génération long par rapport au temps de transfert des masses d'eau, on trouve très peu de microcrustacés en rivière.

Cette année, un premier pic de rotifères se développe mi-juin avec une dominance de *K. cochlearis*. La densité de rotifères diminue ensuite jusqu'à moins de 10 ind/l. A cette même période on a observé l'apparition de nombreux petits poissons le long des berges lors de nos campagnes d'échantillonnage. Début juillet, la densité de rotifères augmentent à nouveaux.



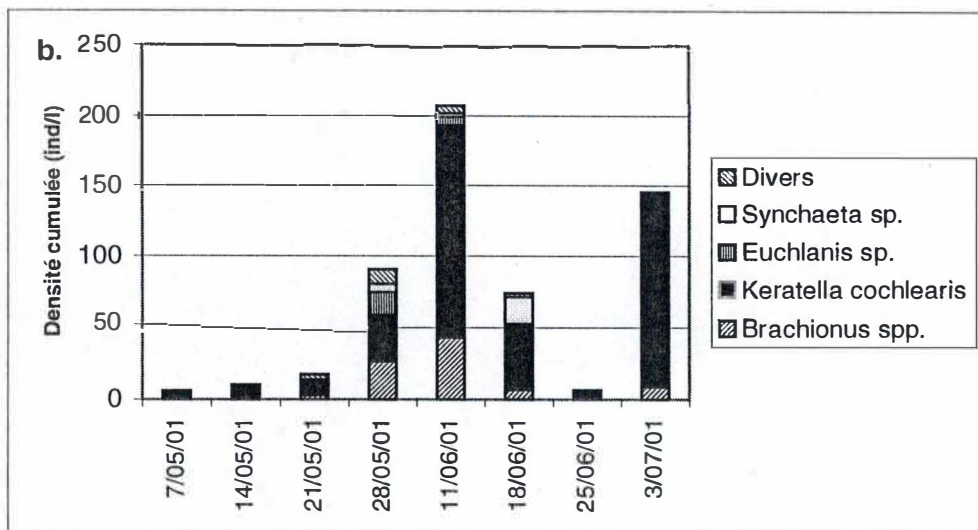


Figure 11 : (a) Variation de l'abondance du mézozooplankton en Meuse à Tailfer en 2001.

(b) Contribution des différentes espèces de rotifères à l'abondance totale. Au sein de la subdivision *Brachionus spp.*, nous avons regroupés les espèces suivantes : *B.calyciflorus*, *B.angularis* et *B. urceolaris*.

## 2.2. Evolution des biomasses planctoniques

L'évolution des concentrations en chl a nous a montré un grand bloom ainsi que deux de moindre intensité. Un pic de rotifères est observé à la mi-juin. On note une diminution de la biomasse algale au même moment.

Cette année le bloom printanier de rotifères n'est pas très important, comparé à des années on l'on atteint des densités supérieures à 1000 ind/l (Gosselain, 1998). Rappelons qu'une des plus importantes caractéristiques des interactions phytoplancton-zooplankton en rivière est la forte dépendance de l'hydrologie. Le débit du fleuve doit être suffisamment bas sur une période de temps suffisamment longue (plusieurs semaines) pour donner le temps au zooplankton de se développer le long de la rivière. Or cette année, les débits printaniers sont restés élevés et variables jusqu'à fin mai, ceci pouvant expliquer la faible biomasse mézozooplanktonique observée.

La biomasse bactérienne est assez constante au fil des semaines. Une première croissance bactérienne est observée à la mi-juin (621  $\mu\text{gC/L}$ ), peu après le déclin des diatomées. Un décalage entre les biomasses maximum de phytoplancton et de bactéries a déjà été observé en rivière (Servais, 1989) aussi bien que dans d'autres écosystèmes aquatiques comme les lacs (Garnier & Benest 1991 in Servais *et al.*, 2000) ou bien le milieu marin (Billen & Becquevort

1991 in Servais *et al.*, 2000). Ceci évoque un couplage durant le printemps entre le phytoplancton et les bactéries hétérotrophes dans la Meuse.

La biomasse bactérienne diminue ensuite pour atteindre son niveau le plus bas (276  $\mu\text{gC/l}$ ).

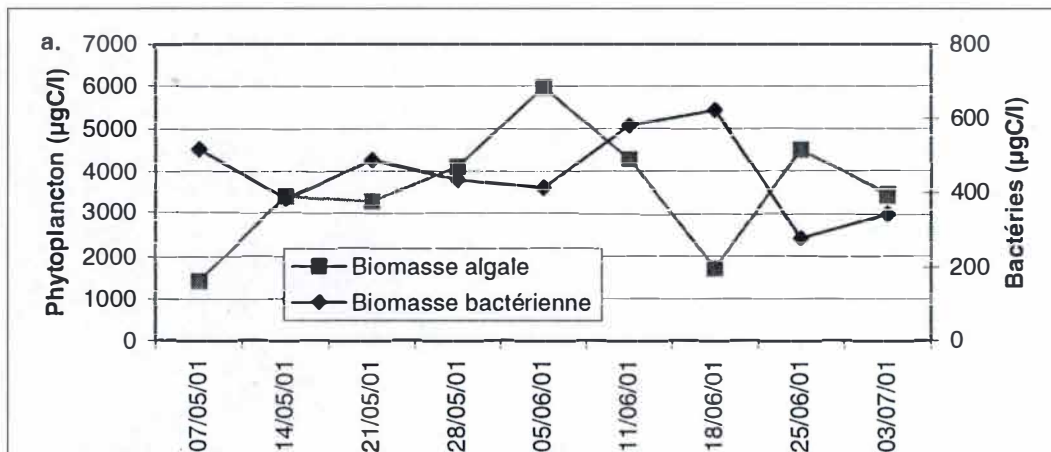


Figure 12 a : Evolution saisonnière des biomasses du phyto- et du bactérioplancton en Meuse à Tailfer (2001).

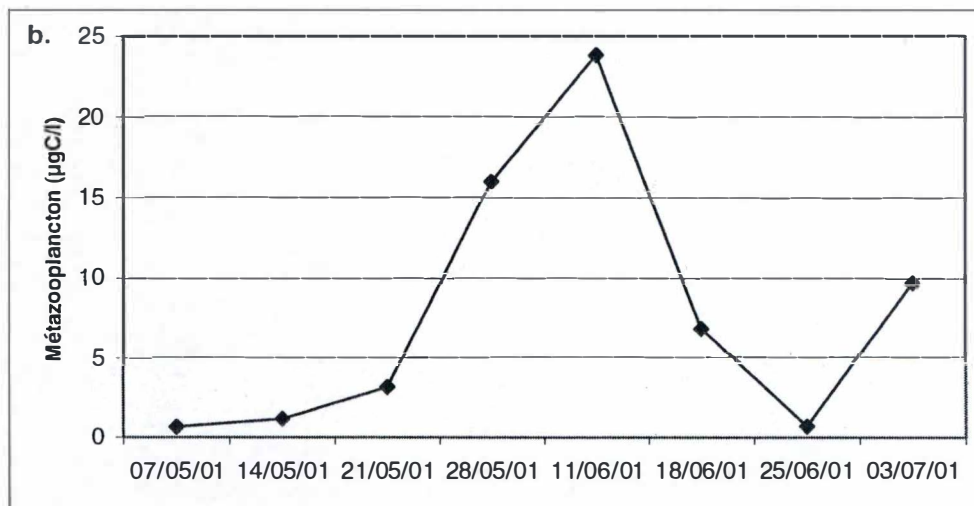


Figure 12 b : Evolution de la biomasse du métazooplancton dans la Meuse à Tailfer (2001).

### 3. SUIVI TEMPOREL DU TAUX DE LYSE CELLULAIRE

Avant de présenter le tableau récapitulatif des paramètres utilisés pour le calcul du taux de lyse, je parlerai des résultats obtenus au laboratoire concernant l'activité estérasiqne interne (AEI).

Les deux cultures utilisées ont donc été lysées par sonication ; les activités estérasiqnes et les concentrations en chl *a* trouvées dans les deux cultures permettent le calcul de l'activité enzymatique du pool d'estérases intracellulaires (Tableau 3).

Culture	AEI/Chl <i>a</i> (nmol FDA/μg Chl <i>a</i> .h)	AEI/C (nmol FDA/μgC.h)
Diatomées	30,2	0,815
<i>Chlorella vulgaris</i>	11,76	0,320

Tableau 3 : AEI/Chl *a* et AEI/C établis pour les cultures de diatomées et d'algues vertes.

La valeur de 30,2 sera dorénavant utilisée pour les communautés phytoplanctoniques naturelles. On a retenu la valeur « diatomées » vu la dominance de ces algues en Meuse.

La méthode de calcul du taux de lyse selon Agusti & Duarte (2000) a été appliquée aux populations naturelles tout au long des efflorescences de printemps. Le tableau 4 reprend l'essentiel des résultats obtenus.

Date	Biomasse algale (μg chl <i>a</i> /l)	AED (nmol FDA/l.h)	$\mu_{(perte)AED}$ (/h)	T <sub>0.5</sub> (h)	AED <sub>prod</sub> (nmol FDA/l.h)	Taux de lyse (/j)	Lyse gC/m <sup>2</sup> .j
07/05/01	38,19	9,86	-0,079	8,75	0,59	0,012	0,066
14/05/01	91,95	23,59	-0,132	5,25	2,25	0,019	0,264
18/05/01	82,53	19,11	-0,227	3,05	3,13	0,03	0,368
21/05/01	88,81	25,57	-0,200	3,47	3,69	0,033	0,434
23/05/01	62,41	17,80	-0,200	3,47	2,57	0,033	0,302
25/05/01	50,63	20,8	-0,200	3,47	3,00	0,047	0,353

28/05/01	65,68	29,8	-0,146	4,75	3,14	0,038	0,369
05/06/01	161,22	16,58	-0,102	6,8	1,22	0,006	0,143
11/06/01	115,62	15,07	-0,178	3,89	1,94	0,013	0,228
18/06/01	76,4	15,38	-0,100	6,93	1,11	0,012	0,131
25/06/01	121,75	19,45	-0,203	3,41	2,85	0,019	0,335
03/07/01	92,77	19,57	-0,110	6,3	1,55	0,013	0,183

Tableau 4 : Paramètres utilisés pour le calcul du taux de lyse journalier et des pertes de carbone par lyse au printemps 2001 à Tailfer.

Le taux de lyse journalier ( $\mu_L$ ) mesuré varie entre 0,006 et  $0,047\text{ j}^{-1}$  avec une moyenne de  $0,023\text{ j}^{-1}$ . Les seules références dont nous disposons actuellement pour comparer ce taux de mortalité en milieu fluvial proviennent d'estimations issues de modèles tels que POTAMON (Everbecq et al., 2001 ; Fig 13). Au regard de ces valeurs de l'ordre de 0,1 à 0,2 /j, nos valeurs de taux de lyse sont faibles.

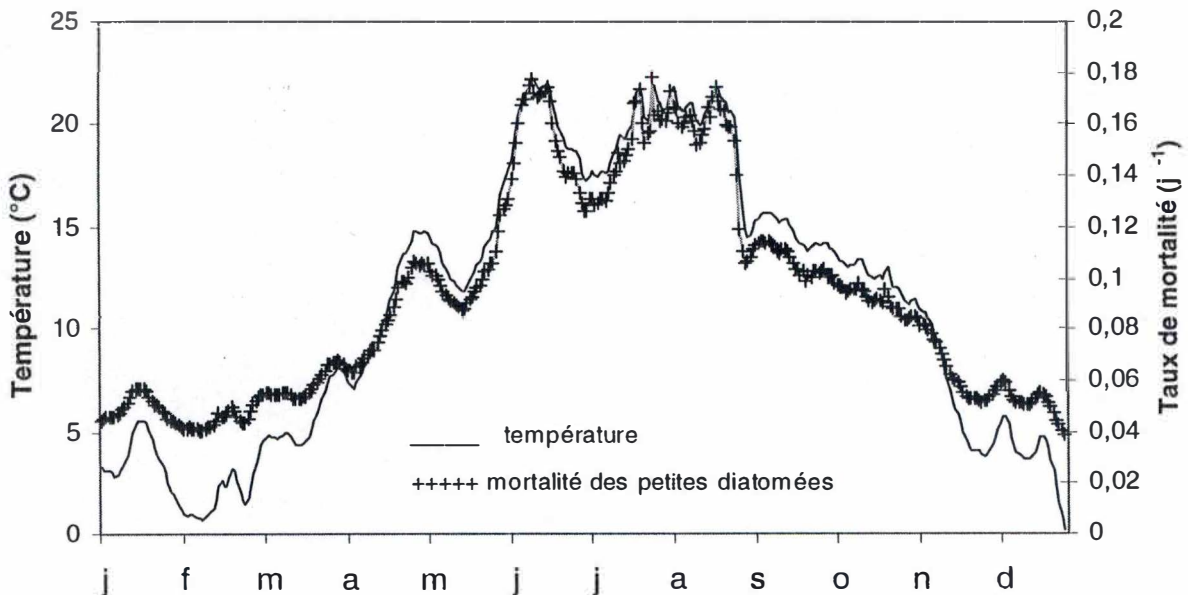


Figure 13 : Simulation de la température de l'eau et de la mortalité des petites diatomées centrées par le modèle POTAMON dans la Meuse à la Plante en 1996.

Si on met en graphique  $\mu_L$  et la biomasse algale au cours du temps (Fig 14), on remarque une relation inverse : le taux de lyse est le plus faible quand le phytoplancton est à son maximum de densité, par contre il est le plus élevé quand la biomasse algale est au plus bas.

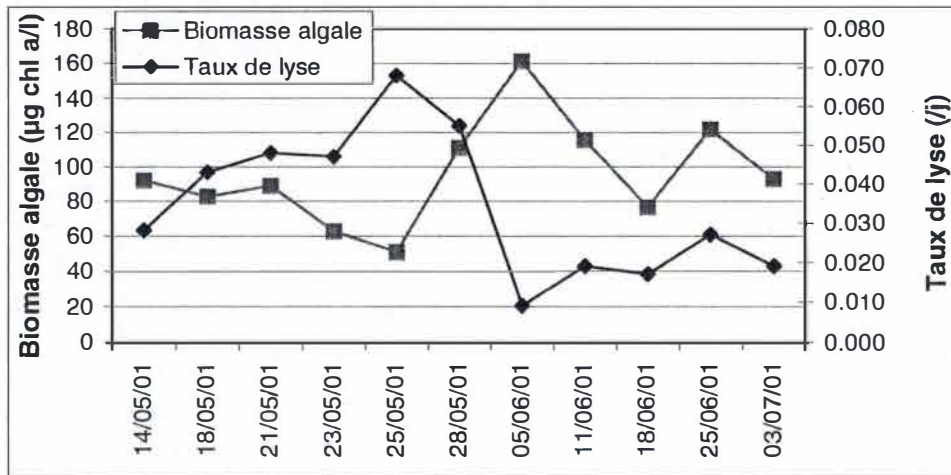


Figure 14 : Taux de lyse et évolution de la chlorophylle a dans la Meuse à Tailfer en 2001.

La comparaison des taux de lyse phytoplanctonique avec l'évolution en nutriments inorganiques (Fig 15) ne suggère aucun lien de cause à effet, ce qui montre encore une fois que les nutriments ne semblent pas limitants en Meuse.

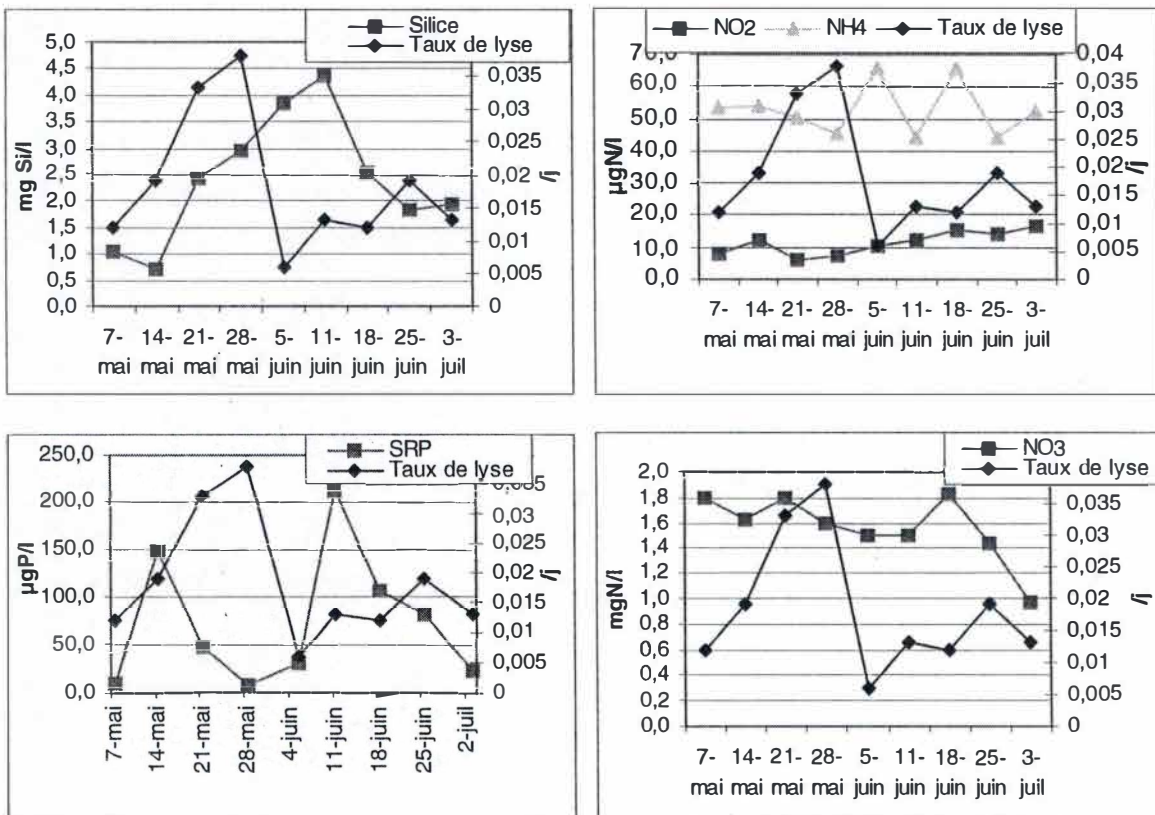


Figure 15 : Taux de lyse et évolution des concentrations en nutriments dans la Meuse à Tailfer (2001) :

La mise en relation du taux de lyse avec la température ne permet pas non plus d'expliquer la lyse observée (fig. 16).

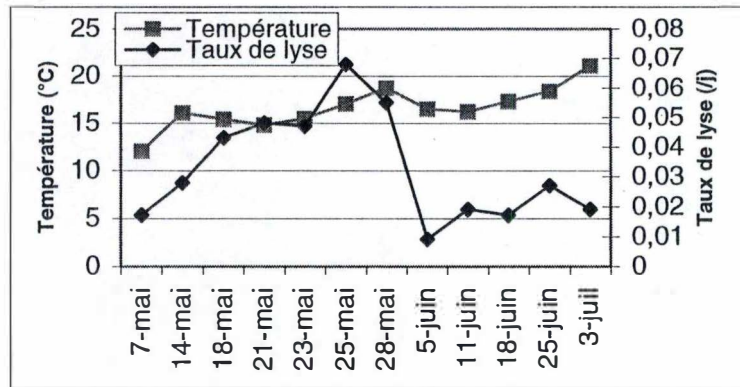


Figure 16 : Evolution de la température et du taux de lyse dans la Meuse à Tailfer.

On compare à présent le taux de lyse avec l'estimation de la biomasse algale parasitée, avec l'imprécision que l'on sait. Néanmoins, l'examen du graphique (Fig. 17) montre qu'une partie de la lyse algale pourrait être expliquée par les attaques fongiques. Ceci est intéressant et mériterait une recherche plus approfondie.

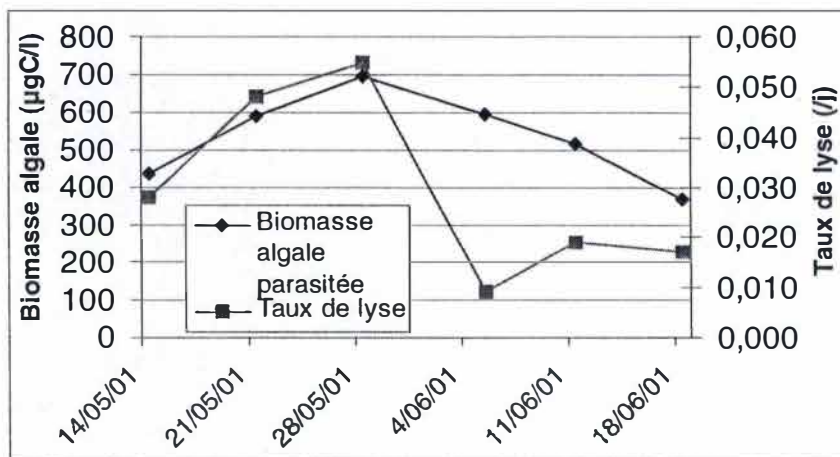


Figure 17 : Evolution de la biomasse algale parasitée et du taux de lyse dans la Meuse à Tailfer.

## 4. COMPARAISON DES FLUX DE CARBONE

### 4.1. Les sources de carbone

#### -La production primaire

La production brute journalière mesurée a varié entre 1,68 et 4,53 gC/m<sup>2</sup>.j et la production nette entre 0,8 et 2,68 gC/m<sup>2</sup>.j (Fig 18).

Le taux de croissance (*f*) est compris entre 0,03 et 0,25.

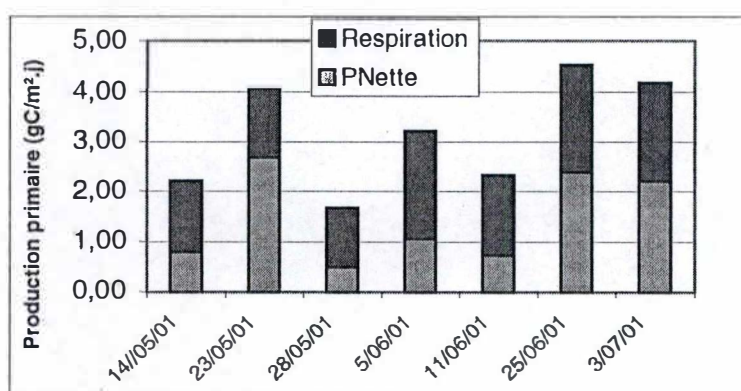


Figure 18 : Fluctuation de la production brute journalière divisée en production nette et respiration phytoplanctonique dans la Meuse à Tailfer (2001).

#### -Apports allochtones

Une partie du carbone disponible pour les organismes hétérotrophes dans la rivière, provient d'apport de carbone organique biodégradable d'origine exogène. Cet apport est estimé à 0,375 gC/m<sup>2</sup>.j pour ce secteur de la Meuse. Cette valeur provient du modèle, non-stationnaire, PEGASE (Smitz *et al.*, 1997) qui prend en compte les apports des effluents industriels, domestiques et agricoles, aussi bien que les apports des affluents et du lessivage des sols.

Remarquons que les apports autochtones venant de la production primaire dépasse toujours les apports allochtones. Ceci est dû au statut eutrophe de la Meuse combiné aux facteurs physiques favorables dans cette section de la Meuse (faible profondeur, bonne transparence de l'eau), le tout conduisant à une production primaire importante.

## 4.2. Les consommations de carbone

### - Demande en carbone des bactéries

La DBC (« demande bactérienne de carbone ») est calculée en divisant la production bactérienne par le rendement de croissance de 0,3 obtenu expérimentalement sur les communautés bactériennes de la Meuse (Servais, 1989). La production bactérienne (Fig. 19) mesurée à l'aide de thymidine tritiée, dans une étude parallèle, donne des valeurs entre 0,19 et 0,89 gC/m<sup>2</sup>.j. La DCB calculée à partir de cette production s'échelonne entre 0,64 et 2,96 gC/m<sup>2</sup>.j. Le détail des méthodes utilisées peut être trouvé dans Pirlot (2001).

La mise en commun de nos résultats, nous permet d'avoir une vue d'ensemble sur les communautés planctoniques de printemps et ainsi nous permettra d'esquisser une comparaison des flux de carbone estimés et d'examiner le devenir de la production primaire (p.53).

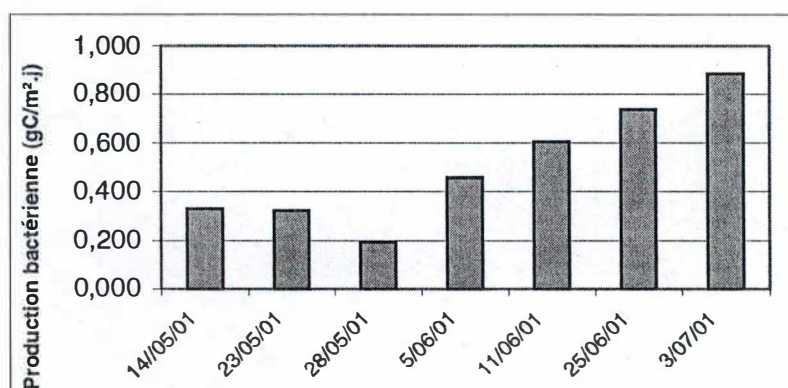


Figure 19 : Production bactérienne à Tailfer au printemps 2001.

### - Broutage

Les pertes par grazing estimées varient entre 0,01 et 0,259 gC/m<sup>2</sup>.j. Ces valeurs insignifiantes sont dues au faible développement de la biomasse du métazooplancton ce printemps. Le détail des calculs se trouve en annexe.

	<b>PN</b>	<b>C allochtone</b>	<b>BCD</b>	<b>Grazing</b>	<b>Lyse</b>	<b>COE</b>
	gC/m <sup>2</sup> .j	gC/m <sup>2</sup> .j	gC/m <sup>2</sup> .j	gC/m <sup>2</sup> .j	gC/m <sup>2</sup> .j	gC/m <sup>2</sup> .j
14/05/01	0,80	0,375	1,11	0,014	0,26	0,15
21/05/01	2,68	0,375	1,08	0,025	0,43	0,28
28/05/01	0,49	0,375	0,64	0,162	0,37	0,12
5/06/01	1,06	0,375	1,53	0,211	0,14	0,22
11/06/01	0,73	0,375	2,01	0,259	0,23	0,16
25/06/01	2,39	0,375	2,45	0,010	0,34	0,32
3/07/01	2,21	0,375	2,96	0,211	0,18	0,29
Moyenne	1,48	0,38	1,68	0,13	0,28	0,22

Tableau 5 : Comparaison des sources de carbone (production primaire nette et carbone allochtone, lyse, COE) et des consommations de carbone (assimilation du métazooplancton et demande bactérienne en carbone) dans la Meuse à Tailfer au printemps 2001.

Si on compare les sources et les pertes de carbone (tableau 5), le rapport source/consommation varie entre 2,77 et 0,49. En 4 occasions le rapport est supérieur à un, ce qui semble indiquer une exportation de matières organiques vers l'aval de la rivière. Dans les 3 autres cas, la consommation en carbone excède les apports ce qui montre probablement une utilisation de matières organiques produite en amont de la rivière.

En moyenne, la DCB (1,68 gC/m<sup>2</sup>.j) est plus de dix fois supérieure à l'assimilation de carbone algal par le métazooplancton (0,13 gC/m<sup>2</sup>.j). La grande contribution des bactéries à l'utilisation de carbone semble montrer l'importance potentielle de la boucle microbienne dans le transfert d'énergie vers les niveaux trophiques supérieurs.

Les valeurs de lyse et de COE seront discutées dans la discussion.

## IV. DISCUSSION

Depuis quelques années, plusieurs études visent à déterminer l'existence d'une boucle microbienne en milieu fluvial. L'intérêt d'une telle démarche vient du fait que l'existence d'une boucle microbienne ouvre de nouvelles perspectives dans la compréhension des dynamiques de l'écosystème fluvial. En effet la chaîne trophique linéaire traditionnelle composée de phytoplancton et de zooplancton herbivore ne tient pas compte des bactéries hétérotrophes. Tandis que la branche trophique microbienne est composée de bactéries, de protozooplancton brouteurs de bactéries et de métazooplancton brouteurs de bactéries et de protozooplancton.

On voit que l'importance de la boucle microbienne peut dépendre soit de la disponibilité en carbone biodégradable pour les bactéries, soit de la prédation du métazooplancton sur le protozooplancton principaux consommateurs de bactéries.

La lyse cellulaire phytoplanctonique pourrait être un processus-clé dans la boucle microbienne car elle aboutit à la libération rapide des constituants cellulaires et par conséquent à une augmentation en carbone dissous dans la colonne d'eau, rapidement assimilable par les bactéries hétérotrophes.

Paradoxalement, la lyse en milieu fluvial n'a jamais encore été étudiée, principalement en raison de l'absence de méthode adéquate. Récemment cependant, Van Boekel *et al.* (1992) ont mis au point une méthode d'estimation de la lyse algale en milieu naturel basée sur la mesure de l'activité des estérases (enzyme strictement cytoplasmique) libérées dans le milieu suite à la lyse cellulaire. Il est bon de savoir que les estérases d'une part sont instables (altérations physico-chimiques et biologiques) une fois libérées dans le milieu et d'autre part ne sont pas strictement phytoplanctoniques. Le fait d'utiliser ces enzymes comme traceurs de la lyse algale doit donc s'accompagner de quelques précautions.

Premièrement, un taux de dégradation de l'AED (activité estérasique dissoute) doit être calculé pour tenir compte de la perte d'activité des estérases une fois dans la colonne d'eau. Le principe de la méthode habituellement citée (dans la littérature marine) pour calculer ce taux repose sur l'amplification du signal fluorescent par un ajout d'estérases suivie de la mesure de leur disparition au cours du temps via la mesure de leur activité enzymatique. Cette mesure présente néanmoins quelques inconvénients : l'amplification du signal fluorescent nous place en condition de substrat saturant et se traduit par la phase de décroissance exponentielle, car en effet la vitesse de dégradation d'un substrat facilement hydrolysable tel

les estérases (protéines) est reliée à la concentration du substrat par une relation de Michaëlis-Menten, ce qui pourrait se traduire par une surestimation du taux de dégradation.

Pour éviter un biais de la mesure du taux de dégradation, nous avons donc réalisé cette mesure à chaque campagne sur le terrain sans ajout d'estérase externe. Ceci nous permet de travailler dans les conditions « réelles » du moment.

Deuxièmement, la méthode utilisée repose sur l'hypothèse que la libération d'estérases dans l'eau est exclusivement attribuée au phytoplancton. La lyse du bactérioplancton et du zooplancton est supposée nulle. A l'appui de cette hypothèse, une étude a montré que la concentration des estérases dans les hétérotrophes est de loin inférieure (10 à 50 fois) à celle dans les autotrophes (Agusti *et al.*, 1998). De plus, pendant notre période d'étude, la communauté autotrophe en Meuse a dominé très largement les autres communautés planctoniques. La lyse bactérienne pendant nos campagnes est insignifiante, la quasi totalité de la mortalité bactérienne étant expliquée par le broutage du protozooplancton (Pirlot, 2001). Ceci suggère d'une façon générale que l'activité estérasique dissoute mesurée dans le milieu pendant nos campagnes est utilisée comme traceur quantitatif fiable de la lyse du phytoplancton.

Il reste que nos mesures du taux de lyse du potamoplancton de la Meuse sont très inférieures aux valeurs attendues, non seulement quand on se réfère aux valeurs utilisées dans les modèles de dynamique de phytoplancton, mais aussi quand on les compare à des taux de lyse du phytoplancton marin. De façon à évaluer nos résultats de façon critique, nous avons estimé par calcul (d'après Descy *et al.*, soumis) le flux de carbone organique excrété par les algues à partir de la production primaire mesurée. On peut ainsi évaluer, en sommant lyse et excrétion, la contribution du carbone dissous d'origine autochtone (ou COD d'origine phytoplanctonique, voir figure p.3) à la demande en carbone des bactéries, elle-même évaluée d'après des mesures de production bactérienne (Pirlot, 2001). Ces valeurs sont reprises au tableau 6.

	rapport (lyse/DCB) %	rapport (COE/DCB) %	Somme %
14/05/01	23,81	13,93	37,74
21/05/01	40,30	26,37	66,67
28/05/01	57,55	18,38	75,93
5/06/01	9,36	14,69	24,05
11/06/01	11,32	8,05	19,37
25/06/01	13,65	12,91	26,56
3/07/01	6,19	9,90	16,09
moyenne	23	15	38

Tableau 6 : Contribution de l'apport autochtone (lyse et excrétion) de carbone à la demande en carbone des bactéries dans la Meuse à Tailfer au printemps 2001.

Plusieurs observations peuvent être faites sur ces valeurs.

La contribution du COE au flux de C autochtone vers les bactéries est faible (en moyenne de 15 %) ,ce qui correspond à une étude antérieure de la Meuse dans le même secteur (Descy *et al.*, soumis) ; nos mesures de lyse donnent des valeurs de flux de C un peu plus élevées, qui indiqueraient un flux moyen de COD phytoplanctonique de l'ordre de 40 % de la DCB. Vu le faible développement du zooplancton en 2001, il est peu vraisemblable que le sloppy feeding soit important, sachant qu'il ne représente qu'une fraction du grazing par le métazooplancton qui est estimé en moyenne à 0.13 g C/m<sup>2</sup>.j pendant notre étude.

Au vu de ces valeurs, deux possibilités se présentent : d'une part, la DCB est peut-être surestimée. Il faut savoir que le calcul du C assimilé par les bactéries hétérotrophes est extrêmement dépendant des mesures de production bactérienne et du rendement de croissance de ces bactéries, lequel varie dans la littérature entre 10 et 90% (Janhke et Craven 1995). La valeur retenue dans notre travail, à savoir 30 %, provient de mesures expérimentales réalisées par Servais (1989).

D'autre part, la lyse algale peut être sous-estimée, suite à une méconnaissance du rapport AEI/chla (nous n'avons fait que 2 mesures), soit à des erreurs de mesure de l'AED (attribuable à des conditions non-saturantes ou à des erreurs sur le taux de perte d'activité enzymatique). En ce qui concerne le rapport AEI/chla, rappelons que tous nos calculs sont basés sur une valeur unique de l'AEI réalisée sur du phytoplancton dominé par des diatomées centriques mises en culture. Ne disposant pas de valeurs d'AEI de plancton d'eau douce, on ne peut que se référer aux études en milieu marin. Dans celles-ci, la grande variabilité des

résultats est flagrante, les valeurs trouvées par différents auteurs vont de 5 à 330 nmol FDA/ $\mu$ g chl a.h, ceci pouvant être dû aux différentes techniques de mise en solution des estérases intracellulaires utilisées ou encore à l'état différents des cultures. Quoiqu'il en soit, la valeur d'AEI/chl a trouvée dans notre étude étant la première réalisée sur du phytoplancton d'eau douce, est à affiner par des études sur des cultures pures et des échantillons naturels de phytoplancton en période de croissance. D'autre part, la valeur d'AEI plus faible que nous avons trouvé chez une algue verte indique peut-être une variabilité en fonction du type d'algue dont il faudrait tenir compte.

## V.CONCLUSIONS GENERALES

Ce travail a principalement deux objectifs : une mise au point méthodologique de la mesure de la lyse algale et l'obtention de premières données pour vérifier le rôle supposé de la lyse dans la boucle microbienne. Cette étude trouve sa justification dans le fait que d'une part la mortalité n'a jamais été encore estimée en milieu fluvial, d'autre part bien qu'on ait depuis longtemps démontré l'existence d'un couplage entre production algale et production bactérienne dans ce secteur de la Meuse, on n'a jamais examiné en détail les processus par lesquels le carbone organique phytoplanctonique devient disponible pour les bactéries. A priori ces processus sont la lyse, l'excrétion ou dans une moindre mesure le « sloppy feeding ».

Dans un premier temps, nous avons appliqué et adapté une technique de mesure de la lyse phytoplanctonique, développée en milieu marin. Cette technique est basée sur une estimation de la mesure de l'activité estérasique dissoute dans le milieu, couplée à une estimation du taux de dégradation des estérases. Globalement, cette méthode a donné satisfaction, même si les résultats obtenus sont plus faibles que ceux escomptés. En effet, l'application de cette méthode lors des successions planctoniques de printemps a montré que la contribution de la lyse n'intervient en moyenne que pour 23% à la demande en carbone des bactéries hétérotrophes.

La technique de mesure de lyse en milieu fluvial n'étant qu'à ses premiers balbutiements, de nombreuses imprécisions restent encore liées à nos mesures. Il nous paraît bon ici de les expliciter davantage, afin de pouvoir proposer les lignes de conduite à suivre dans le futur pour y remédier.

- Notre connaissance de l'AEI des différents types d'algues présentes dans la Meuse reste encore approximative. Il serait donc intéressant d'étudier l'AEI des principales espèces présentes en Meuse ainsi que de tester plusieurs méthodes de mise en solution des estérases intracellulaires.

- Nous attirons également l'attention sur le fait que le taux de lyse est peut-être sous-estimé. En effet nous avons travaillé à concentration en FDA supposée saturante. Une mesure de l'AED à concentration croissante en FDA pourrait confirmer notre hypothèse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AGUSTI, S., SATTI, M.P., MURA, M.P., AND BENAVENT, E. 1998. Dissolved esterase activity as a tracer of phytoplankton lysis: evidence of high phytoplankton lysis rates in the northwestern Mediterranean. *Limnol. Oceanogr.*, **43**(8) : 1836-1849.

AGUSTI, S., AND DUARTE, C. 2000. Strong seasonality in phytoplankton cell lysis in the NW Mediterranean littoral. *Limnol. Oceanogr.*, **45**(4) : 940-947.

ANDERSEN, P., SORENSEN, H.M. 1986. Population dynamics and trophic coupling in pelagic microorganisms in eutrophic coastal waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **33** : 99-109.

BALLEK, R.W., SWIFT, E. 1986. Nutrient- and light-mediated buoyancy control of the oceanic non-motile dinoflagellate *Pyrocystis noctiluca* Murray ex Haeckel ( 1890). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **101** : 175-192.

BARILLIER, A. & GARNIER, J. 1983. Bacterial growth and oxygen consumption in a river water batch culture (River Seine) : influence of temperature and substrates concentration on the growth yield. *Appl. Environ. Microbiol.*

BASU, B.K. & PICK, F.R. 1996. Factors regulating phytoplankton and zooplankton biomass in temperate rivers. *Limnol. Oceanogr.* **41**(7) : 1572-1577.

BERGES, J.A., AND FALKOWSKI, P.G. 1998. Physiological stress and cell death in marine phytoplankton : Induction of proteases in response to nitrogen or light limitation. *Limnol. Oceanogr.* **43**(1) : 129-135.

BIDDANDA, B. 1988. Microbial aggregation and degradation of phytoplankton-derived detritus in seawater. II. Microbial metabolism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **42** : 89-95.

BIDDANDA, B., AND R. BENNER. 1997. Carbon, nitrogen, and carbohydrates fluxes during the production of particulate and dissolved organic matter by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* **42** : 506-518.

BILLEN, G., GARNIER, J. & HANSET, P. 1994. Modelling phytoplankton development in whole drainage networks : the RIVERSTRAHLER model applied to the Seine river system. *Hydrobiol.* **298** : 119-137.

BIRD, D.F., KALFF, J. 1984. Empirical relationships between bacterial abundance and chlorophyll concentration in fresh and marine waters. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* **41** : 1015-1023.

BRATBAK, G., HELDAL, M., NORLAND, S., THINGSTAD, T.F. 1990. Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics. *Appl. environ. Microbiol.* **56** : 1400-1405.

BRATBAK, G., EGGE, J. K., AND HELDAL, M. 1993. Viral mortality of the marine alga *Emiliania huxleyi* (Haptophyceae) and determination of algal bloom. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **93** : 39-48.

BRUSSAARD, C. P. D., RIEGMAN, R., NOORDELOOS, A. A. M., CADEE, G. C., WITTE, H., KOP, A. J., NIEUWLAND, G., VAN DUYL, F. C., BAK, R. P. M. 1995. Effects of grazing, sedimentation and phytoplankton cell lysis on the structure of a coastal pelagic food web. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **123** : 259-271.

BRUSSAARD, C.P.D., KEMPERS, R.S., KOP, A.J., RIEGMAN, R. & HELDAL, M. 1996. Virus-like particles in summer bloom of *Emiliana huxleyi* in the North Sea. *Aquat. Microb. Ecol.* **10** : 105-113.

BRUSSAARD, C. P. D. 1997. Phytoplankton cell lysis and its ecological implication. PhD Thesis, 187 pp.

CANTER-LUND, H., AND LUND, J.W.G. 1995. *Freshwater Algae. Their Microscopic World Explored.* Biopress Ltd, Bristol.

CANTER, H.M., AND LUND, J.W.G. 1953. Studies on plankton parasites. II. The parasitism of the diatoms with special reference to lakes in the English Lake District. *Trans. Br. Mycol.Soc.*, **36** : 13-37.

CARRIAS, J.F., AMBLARD, C. & BOURDIER, G. 1996. Protistan bacterivory in a oligomesotrophic lake : importance of attached ciliates and flagellates. *Microb. Ecol.* **31** : 249-268.

CHEN, W., AND WANGERSKY, P. J. 1996. Production of dissolved organic carbon in phytoplankton cultures as measured by high temperature catalytic oxidation and ultraviolet photo-oxidation methods. *J. Plankton Res.* **18** : 1201-1211.

CHRISTAKI, U., VAN WAMBEKE, F. 1995. Simulated phytoplankton bloom input in top-down manipulated microcosms : comparative effects of zooflagellates, ciliates and copepods. *Aquat. Microb. Ecol.* **9** : 137-147.

COFFIN, R.B. & SHARP, J.H. 1987. Microbial trophodynamics in the Delaware estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **41** : 253-266.

COLE, J.J., FINDLAY, S., AND PACE, M.L. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems : A cross-system overview. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **43** : 1-10.

CROCKER, KM., PASSOW, U. 1995. Differential aggregation of diatoms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **117** : 249-257.

DEL GIORGIO, P.A., GASOL, J.M., VAQUE, D., MURA, P., AGUSTI, S., AND DUARTE, C.M. 1996. Bacterioplankton community structure : Protists control net production and the proportion of active bacteria in a coastal marine community. *Limnol. Oceanogr.* **41** : 1169-1179.

DESCY, J.-P. 1987. Phytoplankton composition and dynamics in the river Meuse (Belgium). *Arch. Hydrobiol. Suppl.* **78** : 225-245.

DESCY, J.-P., SERVAIS, P., SMITZ, J.S., BILLEN, G., AND EVERBECQ, E. 1987. Phytoplankton biomass and production in the River Meuse (Belgium). –*Wat. Res.* **21**(12) : 1557-1566.

DESCY, J.P. 1992. Eutrophication in the river Meuse. In : *Eutrophication : research and application to water supply*. D.W. Suttcliffe and J.G. Jones (Eds), Freshwater Biological Association, Ambleside, 132-142.

DESCY, J.P., AND GOSSELAIN, V. 1994. Development and ecological importance of phytoplankton in a large lowland river (river Meuse Belgium). *Hydrobiol.* **289** : 139-155.

DESCY, J.P., GOSSELAIN, V. & EVRARD, F. 1994. Respiration and photosynthesis of river phytoplankton. *Verh. Int. Ver. Limnol.* **25** : 1555-1560.

DESCY, J.P., HIGGINS, H.W., MACKAY, D.J., HURLEY, J.P., AND FROST, T.M. 2000. Pigment ratios and phytoplankton assessment in northern Wisconsin lakes. *J. Phycol.* **36** : 274-286.

DESCY, J.P., LEPORCQ, B., VIROUX, L., FRANCOIS, C. & SERVAIS, P. (soumis). Phytoplankton production, exudation and bacterial reassimilation in the river Meuse (Belgium).

DORTCH, Q., CLAYTON Jr, JR., THORESON, SS., AHMED, SI. 1982. Response of marine phytoplankton to nitrogen deficiency : decreased nitrate uptake vs. enhanced ammonium uptake. *Mar. Biol.* **70** : 13-19.

DUCKLOW, H.W. 1986. Bacterial biomass in warm-core Gulf Stream ring 82-B : mesoscale distributions, temporal changes and production. *Deep Sea Res.* **33** : 1789-1812.

EPPLEY, R.W., HOLMES, RW., STRICKLAND, JDH. 1967. Sinking rates of marine phytoplankton measured with a fluorometer. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **1** : 191-208.

EPPLEY, R.W. & PETERSON, B.J. 1979. Particulate organic matter flux and planktonic new production. *Nature* **282** : 677-680.

FENCHEL, T., BLACKBURN, T.H. 1979. *Bacterial and mineral cycling*. Academic Press, New York.

FUKAMI, K., SIMIDU, U., TAGA, N. 1981. Fluctuation of the communities of heterotrophic bacteria during the decomposition process of phytoplankton. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **55** : 171-184.

GARBER, J.H. 1984. Laboratory study of nitrogen and phosphorus remineralization during the decomposition of the coastal plankton and seston. *Est Coast Shelf Sci.* **18** : 685-702.

GASOL, J.M., AND VAQUE, D. 1993. Lack of coupling between heterotrophic nanoflagellates and bacteria : A general phenomenon across aquatic systems ?. *Limnol. Oceanogr.* **38**(3) : 657-665.

GIESKES, W.W.C., ELBRACHTER, M. 1986. Abundance of nanoplankton-size chlorophyll-containing particles caused by diatom disruption in surface waters of the Southern Ocean (Antarctic Peninsula Region). *Neth. J. Sea Res.* **20** : 291-303.

GOSSELAIN, V., DESCY, J.P., EVERBECQ, E. 1994. The phytoplankton community of the river Meuse, Belgium : seasonal dynamics (year 1992) and the possible incidence of zooplankton grazing. *Hydrobiol.* **189** : 179-191.

GOSSELAIN, V. 1998. Phytoplankton de la Meuse et de la Moselle et impact du broutage par le zooplankton. Ph.D. thesis, presses universitaires de Namur, 459 p.

HANSEN, L., KROG, G.F., SONDERGAARD, M. 1986. Decomposition of lake phytoplankton. I. Dynamics of short-term decomposition. *Oikos* **46** : 37-44.

HOLFELD, H. 1998. Fungal infections of the phytoplankton : seasonality, minimal host density, and specificity in a mesotrophic lake. *New Phytol.*, **138** : 507-517.

HOLFELD, H. 2000. Infection of the single-celled diatom *Stephanodiscus alpinus* by the chytrid *Zygorhizidium* : Parasite distribution within host population, changes in host cell size, and host-parasite size relationship. *Limnol. Oceanogr.* **45**(6) : 1440-1444

HOLFELD, H. 2000. Relative abundance, rate of increase, and fungal infections of freshwater phytoplankton. © Oxford University Press 'short communication.

HUTCHINSON, G.E. 1967. A treatise on Limnology vol.2. Introduction to Lake Biology and the Limnoplankton. Wiley, New York.

JANHKE, R.A. AND CRAVEN, D.B. 1995. Quantifying the role of heterotrophic bacteria in the carbon cycle : A need for respiration rate measurements. *Limnol. Oceanogr.* **40** : 436-441.

JASSBY, A.D., GOLDMAN, C.R. 1974. Loss rates from a lake phytoplankton community. *Limnol. Oceanogr.* **19** : 618-627.

JUMARS, P.A., PENRY, D.L., BAROSS, J.A., PERRY, M.J., FROST, B.W. 1989. Closing the microbial loop : dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals. *Deep-sea Res.* **36** : 483-495.

JURGENS, K. 1994. Impact of *Daphnia* on planktonic microbial food webs. A review. *Mar. Microb. Food Webs* **8** : 295-324.

KIRK, T.O.J. 1983. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 401pp.

KNOECHEL, R., AND KALFF, J. 1978. An in situ study of the productivity and population dynamics of five freshwater planktonic diatom species. *Limnol. Oceanogr.* **23** : 195-218.

LAANBROEK, H.J., VERPLANKE, J.C., DE VISSCHER, P.R.M., DE VUYST, R. 1985. Distribution of phyto- and bacterioplankton growth and biomass parameters, dissolved inorganic nutrients and free amino acids during a spring bloom in the Oosterscheld basin, The Netherlands. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **25** : 1-11.

LAMPERT, W., SOMMER, U., AND HANEY, J.F. 1997. *Limnology : The Ecology of Lakes and Streams*. Oxford University Press, New York.

LANCELOT, C., BILLEN, G. 1984. Activity of heterotrophic bacteria and its coupling to primary production during the spring phytoplankton bloom in the Southern Bight of the North Sea. *Limnol. Oceanogr.* **29** : 721-730.

LORENZEN, C.J. 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments. Spectrometric equations. *Limnol. Oceanogr.* **12** : 343-346.

MAGUE, T.H., FRIBERG, E., HUGHES, D.J., AND FRY, B. 1980. Extracellular release of carbon by marine phytoplankton : a physiological approach. *Limnol. Oceanogr.* **25** : 262-279.

MALONE, T.C. 1980. Algal size. In : Morris I (ed). *The physiological ecology of phytoplankton*. Blackwell Scientific Publication, Oxford, p 433-463.

MARANGER, R. & BIRD, D.F. 1995. Viral abundance in aquatic systems : a comparison between marine and fresh waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **121** : 217-226.

MARKER, A.F.H., NUSH, E.A., RAI, H. & RIEMANN, B. 1980. The measurements of photosynthetic pigment in freshwaters and standardization of methods : conclusions and recommendations. *Arch. Hydrobiol. Beih. Erghen. Limnol.* **14** :99-117.

MASON, C.A., HAMER, G., AND BRYERS, J.D. 1986. The death and lysis of microorganisms in environmental processes. *FEMS Microbiol. Rev.* **39** : 373-401.

NEWELL, R.C., LUCAS, M.J., LINLEY, E.A.S. 1981. Rate of degradation and efficiency of conversion of phytoplankton debris by marine microorganisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **6** : 123-136.

OOMS-WILMS, A.L. 1997. Are bacteria an important food source for rotifers in eutrophic lakes? *J. Plankton. Res.* **19** : 1125-1141.

PACE, M.L., GLASSER, J.E., POMEROY, L.R. 1984. A simulation analysis of continental shelf food webs. *Mar. Biol.* **82** : 47-63.

PACE, M.L., FINDLAY, S.E.G. & LINTS, D. 1992. Zooplankton in advective environments : the Hudson river community and a comparative analysis. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* **49** : 1060-1069.

PAERL, H. 1978. Microbial organic carbon recovery in aquatic ecosystems. *Limnol. Oceanogr.* **23** : 927-935.

PAINTING, S.J., MOLONEY, C.L., LUCAS, M.I. 1993. Simulation and field measurements of phytoplankton-bacteria-zooplankton interactions in the southern Benguela upwelling region. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **100** : 55-69.

PASSOW, U. 1991. Species-specific sedimentation and sinking velocities of diatoms. *Mar. Biol.* **108** : 449-455.

PEDUZZI, P., HERNDL, J.G. 1992. Zooplankton activity fueling the microbial loop : differential growth response of bacteria from oligotrophic and eutrophic waters. *Limnol. Oceanogr.* **37** : 1087-1092.

PETIT, M. 1997. Dynamique de la communauté bactérioplanctonique d'un réservoir mésotrophe (Lac de Pareloup). Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, France.

PIRLOT, samuel. 2001. Etude de la boucle microbienne : Mortalité bactérienne, Grazing par le protozooplancton. Mémoire, presses universitaires Namuroise, 86pp.

PLATT, T. 1981. Physiological bases of phytoplankton ecology. *Can Bull Fish Aquat Sci* **210**.

PORTER, K.G., PACE, M.L., BATTEY, J.F. 1979. Ciliate protozoans as links in freshwater planktonic food chains. *Nature, Lond.* **277** : 563-565.

PORTER, K.G. 1988. Phagotrophic phytoflagellates in microbial food webs. *Hydrobiol.* **159** : 89-97.

POURRIOT, R., CAPBLANCQ, J., CHAMP, P., MEYER, J.A. 1982. Ecologie du plancton des eaux continentales. Masson Paris, 198p.

PROCTOR, L.M., AND FUHRMAN, J.A. 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria . *Nature* **343** : 60-62.

REYNOLDS, C.S. 1973. The seasonal periodicity of planktonic diatoms in a shallow eutrophic lake. *Freshwater Biology* **3** : 89-110.

REYNOLDS, C.S., THOMPSON, J.M., FERGUSON, A.J.D., WISEMAN, S.W. 1982. Loss processes in the population dynamics of phytoplankton maintained in closed systems. *J. Plankton Res.* **4** : 561-600.

REYNOLDS, C.S. 1984. *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge 384pp.

REYNOLDS, C.S. 1997. Vegetation processes in the pelagic : a model for ecosystem theory. O. Kinne (Ed.), Excellence in Ecology, Ecology Institute, Oldendorf/Luhe, vol. 9, 371 pp.

ROTMAN, B., AND PAPERMASTER, B.W. 1966. Membrane properties of living mammalian cell as studied by enzymatic hydrolysis of fluorogenic esters. *Biochemistry* **55** : 134-141.

SELL, A.F. & OVERBECK, J. 1992. Exudates : phytoplankton-bacterioplankton interactions in Plubsee. *J. Plankton Res.* **14** : 1199-1215.

SERVAIS, P. 1989. Bacterioplankton biomass and production in the river Meuse (Belgium). *Hydrobiol.* **174** : 99-110.

SERVAIS, P., GOSSELAIN, V., JOAQUIM-JUSTO, C., BECQUEVORT, S., THOME, J.P., DESCY, J.P. 2000. Trophic relationship between planktonic microorganisms in the river Meuse (Belgium) : a carbon budget. *Arch. Hydrobiol.* **149** : 625-653.

SMETACK, VS. 1985. Role of sinking diatom life-history cycles : ecological, evolutionary and geological significance. *Mar. Biol.* **84** : 239-251.

SMITH, E. 1936. Photosynthesis in relation to light and carbon dioxide. *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.* **22** : 504-511.

SMITZ, J., EVERBECQ, E., DELIEGE, J.F., DESCY, J.P., WOLLAST, R & VANDERBORGHT, J.P. 1997. PEGASE, une méthodologie et un outil de simulation prévisionnelle pour la gestion de la qualité des eaux de surface. *Tribune de l'eau* **588** : 73-82.

SOMMER, U. 1994. The impact of light intensity and daylength on silicate and nitrate competition among marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* **39** : 1680-1688.

STOLTE, W. 1996. Size-dependent restrictions on competition for nutrients by marine phytoplankton. Thesis, Rijksuniversiteit Groningen.

SUTTLE, C.A. 1994. The significance of viruses to mortality in aquatic microbial communities. *Microb. Ecol.* **28** : 237-243.

TALLING, J.F. 1957. The phytoplankton population as a compound photosynthetic system. *New Phytol.* **56** : 133-149.

THORP, J.H., BLACK, A.R., HAAG, K.H. & WEHR, J.D. 1994. Zooplankton assemblages in the Ohio river : seasonal, tributary, and navigation dam effects. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* **51** : 1634-1643.

TILMAN, D., KILHAM, S. 1976. Phosphate and silicate growth and uptake kinetics of the diatoms *Asterionella formosa* and *Cyclotella meneghiniana* in batch and semicontinuous culture. *J. Phycol.* **12** : 375-383.

TILMAN, D., MATTSON, M., LANGER, S. 1981. Competition and nutrient kinetics along a temperature gradient : an experimental test of a mechanistic approach to nice theory. *Limnol. Oceanogr.* **26** : 1020-1033.

VAN BOEKEL, W.H.M., HANSEN, F.C., RIEGMAN, R., AND BAK, R.P.M. 1992. Lysis-induced decline of a *Phaeocystis* spring bloom and coupling with the microbial food web. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **81** : 269-276.

VAN DONK, E. 1983. Factors influencing phytoplankton growth and succession in Lake Maarsseveen. Thesis, University of Amsterdam, 148 pp.

VAN DONK, E. XXXX. The role of fungal parasites in phytoplankton succession. Provincial Waterboard of Utrecht, The Netherlands.

VIROUX, L., 1997. Zooplankton development in two large lowland rivers, the Moselle (France) and the Meuse (Belgium), in 1993. *J. Plankton Res.* **19**(11) : 1743-1762.

VOLLENWEIDER, R.A. 1965. Calculation models of photosynthesis-depth curves and some implications regarding day rate estimates in primary production measurements. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* **18** : 425-457.

WAITE, A., HARRISON, PJ. 1992. Role of sinking and ascent during sexual reproduction in the marine diatom *Ditylum brightwellii*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **87** : 113-122.

WETZEL, R.G. 1982. *Limnology*. Saunders Publishing, Philadelphia.

WILLIAMS, P.J. 1981. Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the planktonic food web. *Kieler Meeresforsch. Sonderh.* **5** : 1-28.

LEXIQUE

AE = activité estérasique  
AED = activité estérasique dissoute  
AEI = Activité estérasique intracellulaire  
 $\mu$  = croissance algale  
B = biomasse algale  
C = carbone  
chl a = chlorophylle a  
COD = carbone organique dissous  
COE = taux d'excrétion de carbone organique  
DCB = demande en carbone des bactéries  
FDA = Fluorescéine-diacétate  
HNFs = hétérotrophes nanoflagellés  
I = intensité lumineuse  
Ik = seuil d'intensité lumineuse à la saturation de la photosynthèse  
k = coefficient vertical d'atténuation de la lumière  
MOD = matière organique dissoute  
PAR = radiation photosynthétiquement active  
PB = production bactérienne  
PBJ = production brute journalière  
PN = production nette  
Pmax = taux de photosynthèse à saturation  
R = respiration

## ANNEXES

	<b>Pmax</b> μgC/μgchla.l.h	<b>Ik</b> μE/m <sup>2</sup> .s	<b>PBj</b> gC/m <sup>2</sup> .j	<b>respiration</b> μgC/μg chla.l.h	<b>R</b> gC/m <sup>2</sup> .j	<b>PN</b> gC/m <sup>2</sup> .j	<b>P/R</b>	<b>μmax</b> /j
14/05/01	1,88	213,27	2,21	0,16	1,41	0,80	1,57	0,06
23/05/01	3,42	267,11	4,06	0,23	1,38	2,68	2,94	0,25
28/05/01	0,84	296,38	1,68	0,11	1,19	0,49	1,41	0,03
5/06/01	1,43	293,5	3,21	0,14	2,15	1,06	1,49	0,04
11/06/01	1,52	287,89	2,32	0,14	1,59	0,73	1,46	0,04
25/06/01	2,4	345,27	4,53	0,18	2,14	2,39	2,11	0,12
3/07/01	3,23	341,25	4,18	0,22	1,97	2,21	2,12	0,15

**Valeurs de production à Tailfer**

	T° °C	Brachionus spp. ind/l	Keratella cochlearis ind/l	autres rotifères ind/l	Nauplii ind/l	Grazing gC/m <sup>2</sup> .j
7/05/01	12°	0,6	3,8	1,6	2,8	0,007
14/05/01	16°	1	7,2	2	1,6	0,014
21/05/01	15°	3	8	6,67	0	0,025
28/05/01	19°	26,66	32,33	31,68	0	0,162
11/06/01	16°	43,34	150	14	1,33	0,259
18/06/01	17°	6,67	46	21,34	0	0,111
25/06/01	19°	0,67	4,67	1	0,33	0,010
3/07/01	22°	8,67	136,67	0	0	0,211
	<b>I<sub>max</sub>(20°C)</b> ngC/ind.h	<b>17,5</b>	<b>15</b>	<b>26</b>	<b>4</b>	

**Densité du métazooplancton utilisée pour l'estimation du grazing**