



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Compléments à l'étude de la production primaire en Meuse: mise au point d'une méthode de mesure de l'activité respiratoire du phytoplancton

Gosselain, Véronique

Award date:
1988

Awarding institution:
Universite de Namur

[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
FACULTE DES SCIENCES
Année Académique 1987 - 1988

*COMPLEMENTS A L'ETUDE DE LA PRODUCTION
PRIMAIRE EN MEUSE. MISE AU POINT D'UNE
METHODE DE MESURE DE L'ACTIVITE RESPI-
RATOIRE DU PHYTOPLANCTON.*

GOSSELAIN Véronique

MEMOIRE PRESENTE EN VUE
DE L'OBTENTION DU GRADE DE
LICENCIE EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
Faculté des Sciences
rue de Bruxelles 61, B-5000 NAMUR
Tél. 081-22.90.61 Télex 59222 facnam-b Téléfax 081-23.03.91

Compléments à l'étude de la production primaire en Meuse. Mise au point d'une méthode de mesure de l'activité respiratoire du phytoplancton.

GOSSELAIN Véronique

Résumé:

L'objectif de ce travail est la mise au point d'une méthode de mesure de la respiration phytoplanctonique. Un dosage enzymatique est utilisé: le dosage-ETS. Il s'agit d'une méthode de réduction du tétrazolium qui mesure l'activité de la chaîne de transporteurs d'électrons respiratoire. Les campagnes de mesure en Meuse ont permis l'obtention de premières données pour vérifier le bilan production-respiration du phytoplancton. Les valeurs de respiration obtenues à partir du dosage ETS indiquent que le modèle écologique de Haute Meuse proposé par BILLEN *et al.* (1985) semble sous-estimer le compartiment respiration. Ces mêmes valeurs de respiration ont conduit à recalculer les coefficients des estimations de respiration couramment utilisées, soit en fonction de la photosynthèse brute (P_{max}), soit en fonction de la chlorophylle *a* et de la température. Ces estimations restent toutefois fort approximatives. La relation de la respiration à la température paraît liée à la composition des communautés phytoplanctoniques; il en serait de même pour la respiration estimée comme une fraction de la production brute.

Abstract:

The aim of this work was the study of the phytoplanktonic respiration. A tetrazolium-reduction method for measurement of the respiratory electron-transport activity in plankton is used, called ETS-assay. The field measurements provided first values to verify the production-respiration ratio of the phytoplankton. The respiration values obtained from ETS-assay indicate that the ecological modelling for Upper Meuse ecosystem (Belgium) by BILLEN *et al.* (1985) seems to underestimate the respiration. New coefficients for respiratory estimations usually used, either as a fraction of gross photosynthesis or as a function of chlorophyll *a* and temperature, are calculated from these values. These are approximate estimations. The relationship between respiration and temperature seems to be related to the phytoplanktonic community composition. It would be the same for respiration calculated as a fraction of gross photosynthesis.

Mémoire de licence en Sciences Zoologiques
Septembre 1988
Laboratoire d'Ecologie des Eaux Douces
Promoteur : DESCY J.P.

Remerciements

Je remercie le Professeur Jean-Pierre DESCY qui m'a proposé ce mémoire et en a suivi le bon déroulement tout au long de cette année, ainsi que le professeur Jean-Claude MICHA qui a mis à ma disposition le laboratoire d'Ecologie.

Ma reconnaissance va également au professeur Vincent DEMOULIN qui m'a accueillie au laboratoire d'Algologie de l'Université de Liège, ainsi qu'à l'Unité de Modélisation Mathématique des Eaux Intérieures qui a réalisé différentes simulations à partir de nos résultats. Pour leur aide et leurs conseils durant mon passage au laboratoire d'Algologie, je remercie particulièrement Monsieur Jean-Marie THEATE et Madame Madeleine MEURICE, qui m'a enseigné les techniques de cultures d'algues unispécifiques et m'a fourni les cultures dont je me suis servie. Je tiens à leur exprimer toute mon amitié.

Je tiens également à remercier le professeur WATTIAUX qui a mis à ma disposition la sonde à ultra-sons, ainsi que les différents laboratoires au sein des Facultés qui m'ont accueillie et renseignée : les laboratoires de Biochimie Cellulaire, de Biologie Animale, de Génétique Moléculaire, de Microbiologie, de Physiologie Végétale et de Statistique.

Mes remerciements vont aussi à tous les membres du laboratoire d'Ecologie avec qui j'ai partagé cette année, pour leur sympathie et leur disponibilité. Je remercie en particulier Monsieur André POTTY qui a veillé à tous les petits détails techniques durant la phase de mise au point de notre travail.

Ce travail n'aurait été possible sans le travail conjoint de Madame Carine WILLEMS. Ses conseils, sa présence et son amitié m'ont été chers durant cette année et je tiens à lui confirmer mon amitié et à lui exprimer toute ma reconnaissance.

Et comme un travail est avant tout le fruit d'un long cheminement, je voudrais remercier ici tous ceux qui m'ont partagé leur amitié durant ces quatre années et qui ont contribué à affirmer ce que je suis.

Enfin mes plus chers remerciements vont à ma famille, qui m'a soutenue et encouragée tout au long de mes études; pour leur patience et leur dévouement, en particulier durant la rédaction de ce mémoire, c'est à eux que j'adresse le plus vif "Merci", à mes Parents.

SOMMAIRE

RESUME - ABSTRACT	3
REMERCIEMENTS	4
SOMMAIRE	5
Première partie :	
PRESENTATION THEORIQUE	10
I. INTRODUCTION	11
I.1. OBJECTIFS ET GENERALITES	11
I.2. LE CADRE D'ETUDE : LA MEUSE	12
II. LA PRODUCTION PRIMAIRE	13
II.1. LE PHYTOPLANCTON	13
II.1.1. Généralités	13
II.1.2. Les communautés phytoplanctoniques de la Meuse	14
II.2. BIOMASSE ET CROISSANCE	15
II.2.1. Croissance et variation de biomasse	15
II.2.2. Changements de biomasse et variations saisonnières	16
II.2.3. Estimation de biomasse	18
II.3. CLIMAT LUMINEUX	19
II.3.1. Energie lumineuse incidente	19
II.3.2. Transmission de la lumière dans l'eau	19
II.4. LOI D'ARRHENIUS ET LOI EN Q_{10}	20
II.5. PRODUCTION PRIMAIRE ET PROFILS DE PHOTOSYNTHESE	22
II.5.1. Définition de la production primaire	22
II.5.2. Relation photosynthèse - lumière	23
1. Photosynthèse en lumière limitante	23
2. Photosynthèse en lumière saturante	24
3. Photoinhibition	26
II.5.3. Variation de la photosynthèse en profondeur	27
II.5.4. Variations journalières et saisonnières de la photosynthèse	27

II.6. RESPIRATION	28
II.6.1. Facteurs de variabilité de la respiration	28
II.6.2. Valeurs de la littérature	29
II.6.3. La photorespiration	30
II.6.4. Conclusions	32
III. LA RESPIRATION	34
III.1. LE SYSTEME DE TRANSPORT D'ELECTRONS (ETS) ET SON CONTROLE A TRAVERS LA CELLULE	34
III.1.1. Composés et fonctions	34
III.1.2. Contrôle	35
III.2. L'ETS CHEZ LES ORGANISMES AQUATIQUES	36
III.2.1. Les procaryotes	37
1. Les bactéries hétérotrophes	37
2. Les bactéries marines	37
3. Les cyanobactéries ou cyanophycées	37
III.2.2. Les eucaryotes	38
1. Les protozoaires	38
2. Les algues eucaryotes	38
a. Introduction	38
b. Respiration résistante au cyanure	38
c. Respiration des chloroplastes	38
d. Respiration "sombre"	39
e. ETS mitochondrial	39
III.3. MESURE DE L'ACTIVITE ETS	42
III.3.1. Principe et stratégie générale	42
III.3.2. Développement de la méthode	43
III.4. RAPPORT R/ETS	44
III.5. RESULTATS DE LA LITTERATURE	46

Deuxième partie :

MATERIEL ET METHODES	53
I. INTRODUCTION	54
I.1. CADRE GENERAL D'ETUDE.	54

II. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU	55
II.1. PRELEVEMENT ET CONSERVATION	55
II.2. METHODES ET MESURES	55
II.2.1. Température	55
II.2.2. pH	55
II.2.3. Conductivité	56
II.2.4. Alcalinité	56
II.2.5. Oxygène dissous	56
II.2.6. Transparence de l'eau	56
II.2.7. Intensité lumineuse	57
II.2.8. Matières en suspension (M.E.S.)	57
II.2.9. Azote	57
1. Ammoniaque	58
2. Nitrites	58
3. Nitrates	58
II.2.10. Orthophosphates	58
II.2.11. Phosphore total	58
II.2.12. Silice	59
II.2.13. Carbone organique dissous	59
III. MESURE DE LA BIOMASSE	60
III.1. PRINCIPE	60
III.2. PROCEDURE	61
III.3. EXPRESSION DES RESULTATS	61
III.4. REMARQUE	62
IV. DOSAGE ETS	63
IV.1. REACTIFS	63
IV.2. PRINCIPE	64
IV.3. PREPARATION DES ECHANTILLONS	65
IV.4. BROUAGE	65
IV.4.1. Le broyeur à billes	65
IV.4.2. La bombe à éclatement de cellules	66
IV.4.3. La sonication	67
IV.5. PROCEDURE DE DOSAGE	68
IV.6. EXPRESSION DES RESULTATS	68
IV.7. ACTIVITE RESPIRATOIRE	69

II.3. PARAMETRES BIOLOGIQUES	88
II.3.1. Chl _a	88
II.3.2. K _{max} et I _k	88
III. EVOLUTION DE LA COMPOSITION DU PHYTOPLANCTON	90
IV. ACTIVITE RESPIRATOIRE	92
IV.1. RESULTATS	92
IV.2. INTERPRETATION	93
IV.2.1. Relation taux respiratoire - température	93
IV.2.2. Comparaison des mesures de respiration avec les estimations généralement proposées	94
1. Estimation de la respiration via la valeur de P _{max}	94
2. Estimation de la respiration via la valeur de Chl _a et la température	95
3. Discussion	95
IV.2.3. Evolution des rapports P/R et de la P _N	96
Le 6 mai	97
Le 18 mai	98
Le 7 juin	98
Le 15 juin	98
V. SIMULATION DE L'EVOLUTION DU PHYTOPLANCTON AU COURS DE L'ANNEE 1986	107
CONCLUSIONS	114
ANNEXE	117
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX DE LA PARTIE RESULTATS	118
BIBLIOGRAPHIE	120

Première partie :

PRESENTATION THEORIQUE

I. INTRODUCTION

I.1. OBJECTIFS ET GENERALITES [d'après PACKARD, 1985]

Le processus de respiration est commun à tous les organismes vivants. C'est le processus par lequel ils génèrent de l'énergie sous forme d'ATP, produisent des squelettes carbonés pour la biosynthèse du matériel cellulaire, et forment des équivalents réducteurs (NADH et NADPH) pour le maintien du métabolisme cellulaire. En conjonction avec la photosynthèse, la respiration détermine le potentiel de croissance de la production nette et l'efficacité de production. La balance entre les réponses de taux de respiration d'un organisme autotrophe et le taux de photosynthèse face aux changements de température, d'âge, de manque de nutriments et de lumière détermine l'efficacité relative de croissance et le succès relatif de cet organisme.

La respiration a été bien étudiée pour le zooplancton, mais peu en ce qui concerne le phytoplancton. La raison en est l'idée que le taux respiratoire du phytoplancton représente une fraction petite et constante du taux de photosynthèse. La difficulté de mesurer la respiration sur de faibles densités de cellules et la difficulté de séparation physique du phytoplancton des autres composés du plancton dans le but d'étudier son métabolisme indépendamment sont d'autres raisons de ce manque d'étude. Toutefois, il est maintenant reconnu que la respiration de tous les groupes planctoniques devrait recevoir plus d'attention.

Nous nous proposons d'approfondir l'étude de la respiration du phytoplancton de la Meuse en vue de compléter le compartiment "production primaire" du modèle de fonctionnement de l'écosystème aquatique de la Haute Meuse. Dans un premier temps, nous aborderons les grandes lignes de la production primaire, afin de resituer notre travail dans le cadre des études menées jusqu'à présent à ce sujet.

I.2. LE CADRE D'ETUDE : LA MEUSE

La Meuse prend sa source dans l'Est de la France, à Pouilly-en-Bassigny et s'écoule en Belgique et aux Pays-Bas avant de se jeter dans la Mer du Nord. Sa longueur totale est de 885 km et son bassin hydrologique couvre 36.000 km², dont 40% en Belgique. Dans toute sa partie belge, la Meuse a subi des aménagements pour la navigation.

II. LA PRODUCTION PRIMAIRE

[Essentiellement d'après LE CREN et LOWE-McCONNELL, 1980; POURRIOT *et al.*, 1982; REYNOLDS, 1984]

II.1. LE PHYTOPLANCTON

II.1.1. Généralités

Le phytoplancton ou plancton végétal désigne l'ensemble des algues pélagiques flottant librement au gré des déplacements des eaux.

Ce sont des algues microscopiques qui se développent soit en cellules isolées soit en colonies, et dont la taille varie entre 1 à 2 μm (chlorelles) et 500 μm (Volvox). La taille permet de distinguer le microplancton retenu dans les mailles des filets fins habituels, d'un nanoplancton constitué d'éléments plus petits qui passent au travers de ces mailles ($< 35 \mu\text{m}$).

Les communautés de phytoplancton peuplent des milieux d'eaux stagnantes ou des rivières à cours lent telle la Meuse et d'autres grands fleuves européens. La plupart des espèces sont cosmopolites et présentent une assez grande tolérance aux conditions de milieux. POURRIOT *et al.* (1982) indiquent toutefois certaines tendances générales dans la composition des espèces, à savoir tout d'abord que le nombre d'espèces est généralement plus faible dans les eaux oligotrophes (définies comme des eaux de faible productivité). En outre, la proportion d'espèces nanoplanctoniques diminue avec l'eutrophisation¹ et l'augmentation de température. Enfin, quelques espèces ou groupes d'espèces se retrouvent régulièrement dans des eaux de niveaux trophiques donnés.

¹. Eutrophisation : enrichissement des eaux de surface en substances nutritives, permettant une augmentation de la production primaire, entraînant ainsi un développement excessif de la biomasse végétale [DESCY, 1988].

Notons encore quelques caractéristiques générales du phytoplancton. Légèrement plus denses que l'eau, ces organismes tendent à sédimenter; leur taille réduite constitue ainsi une forme d'adaptation à la vie en pleine eau, selon la loi de Stokes sur la vitesse de sédimentation des particules. En outre, les formes planctoniques ont souvent des rapports surface/volume élevés ou possèdent d'autres adaptations leur conférant une meilleure flottaison (appendices, vacuoles gazeuses, flagelles).

Le phytoplancton possède généralement un contenu élevé en chlorophylle, un minimum de matières structurales et des coefficients d'atténuation (voir II.3.2.) relativement élevés facilitant la compétition avec d'autres matériaux absorbants. La chlorophylle *a* (Chl*a*) est contenue dans les chloroplastes (sauf chez les Cyanophycées, Procaryotes). Le phytoplancton renferme en outre des pigments accessoires, caroténoïdes (carotènes et xanthophylles) et biliprotéines (uniquement chez les Cyano-, Rhodo- et Cryptophycées), qui confèrent aux algues des couleurs différentes selon les groupes. La Chl*a* se caractérise par un minimum entre 450 et 640 nm, tandis que les pigments accessoires absorbent plus ou moins la lumière dans cette frange du spectre. L'énergie absorbée par ces pigments annexes est transmise à la Chl*a*, seul pigment actif de la photosynthèse, si bien qu'une communauté plurispécifique est susceptible d'utiliser toutes les radiations lumineuses entre 400 et 700 nm.

II.1.2. Les communautés phytoplanctoniques de la Meuse

[d'après DESCY, 1987]

Le phytoplancton de la Meuse est largement dominé par les diatomées et les algues vertes, qui représentent respectivement 62% et 26% des 237 taxa identifiés jusqu'à présent. On rencontre, en moindres proportions, d'autres groupes tels des algues bleues (Chroococcaceae et Oscillatoriaceae), des Pyrrophytes (essentiellement des Cryptomonades) et des Euglénophytes.

Parmi le groupe le plus diversifié des Diatomées, les espèces de phytoplancton vrai sont relativement peu nombreuses : *Asterionella formosa*, *Cyclotella comta*, *C. kuetzingiana*, *C. pseudostelligera*, *Diatoma tenue* var. *elongatum*, *Fragilaria crotonensis*, *Nitzschia fruticosa*, *Stephanodiscus rotula*, *S. minutulus*, *S. hantzschii*, *Melosira granulata* et var. *angustissima*,

M. ambigua. Certaines espèces se rencontrent occasionnellement à la fois dans le phytoplancton et dans le périphyton, de sorte que leur statut est incertain : il s'agit entre autre de *Synedra delicatissima* var. *angustissima*, *S. ulna* var. *danica*, *Tabellaria fenestrata*. D'autre part une espèce telle que *Cyclotella meneghiniana* peut être abondante à la fois dans la colonne d'eau et sur le substrat littoral.

Certains taxons appartenant à d'autres groupes constituent un phytoplancton typique. Il en est ainsi d'un grand nombre de chlorococcales : *Scenedesmus* spp (28 taxa), *Coelastrum microporum*, *Crucigenia tetrapedia*, *C. rectangularis*, *Dictyosphaerium ehrenbergianum*, *Actinastrum hantzschii*,...

II.2. BIOMASSE ET CROISSANCE

II.2.1. Croissance et variation de biomasse

Pour autant qu'il n'y ait pas de limitation nutritionnelle, une population phytoplanctonique peut théoriquement se développer jusqu'à ce que sa biomasse provoque un effet d'ombrage sur la photosynthèse (voir II.3.2.). La biomasse maximale atteinte dans la Meuse, durant les deux années d'étude (1983 - 1984) était d'environ 120 mg Chl.a.m⁻³. [DESCY (1987), DESCY *et al.* (1987)]. Plus récemment, des valeurs supérieures ont été mesurées [WILLEMS, comm. pers.].

On peut observer des variations de biomasse soit horizontales soit verticales. Les variations horizontales sont fréquentes dans de grands lacs et sont attribuées à certains courants. Les changements verticaux quant à eux sont influencés par le taux de reproduction (dépendant lui-même de la lumière et des nutriments), la sédimentation passive, la resuspension et les migrations actives. Tous ces phénomènes sont influencés par la turbulence de l'eau. Ainsi, la stratification de la masse d'eau va limiter la circulation des algues entre la surface et le thermocline. Dans la Meuse toutefois on n'observe pas de stratification, tout au moins dans le secteur qui nous concerne, où l'homogénéité horizontale et verticale a été démontrée [HENRIETTE, 1987].

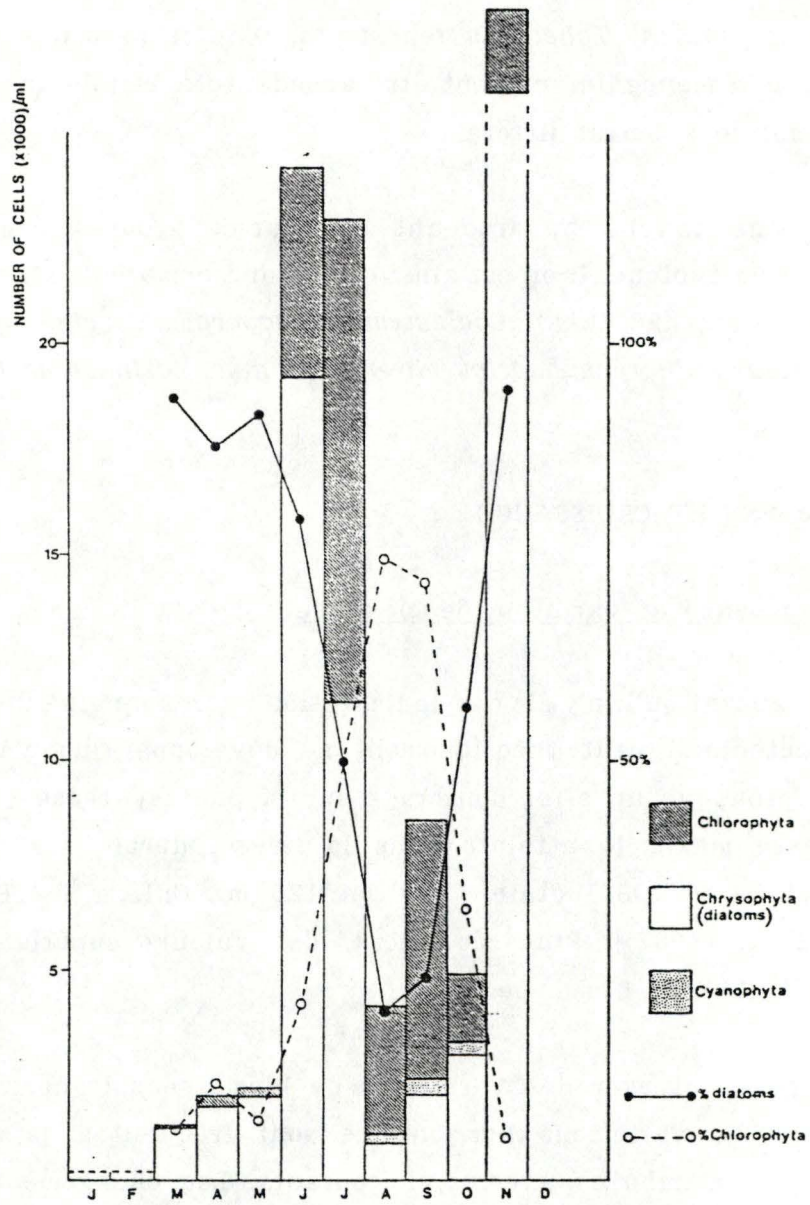


Fig.1.1.a - Variations saisonnières de la densité et de la composition du pythoplancton de la Meuse durant l'année 1983. [DESCY, 1987]

II.2.2. Changements de biomasse et variations saisonnières

En région tempérée, on observe des changements de biomasse et des variations de la composition algale en fonction des saisons qui se présentent généralement comme suit :

- 1) Maximum printanier de diatomées.
- 2) Développement plus ou moins important durant l'été d'algues vertes.
- 3) Seconde poussée automnale de diatomées.

Les autres groupes algaux (Cyano-, Chryso-, Eugléno- et Cryptophycées) sont moins représentés.

La biomasse commence à se développer une fois les limitations hivernales de lumière et de température passée. POURRIOT *et al.*(1982) font remarquer que la poussée printanière résulte avant tout de l'augmentation de l'éclairement puisqu'elle débute à une température encore relativement basse. Celle-ci est fréquemment le fait d'une seule espèce, souvent une diatomée, dont la croissance est exponentielle et généralement plus faible que celle observée en culture. En outre, dans les lacs, les changements des conditions hivernales aux conditions estivales conduisent fréquemment aux taux photosynthétiques les plus élevés de l'année car les éléments nutritifs sont abondants.

Plus tard, on observe des changements de composition d'espèces et ceux-ci se produisent par des changements du taux de croissance et des taux de pertes. Dans la plupart des cas, la sédimentation et le grazing (broutage par le zooplancton) semblent représenter les pertes principales affectant la biomasse du phytoplancton.

En ce qui concerne la Meuse, nous nous référerons aux données recueillies durant les campagnes de 1983 et 1984 et rapportées par DESCY (1987). Le fait le plus significatif dans les successions saisonnières de la Meuse est sans aucun doute l'alternance de diatomées et d'algues vertes, ces dernières étant dominantes durant l'été. Les Chlorophytes présentent la plus grande diversité durant la période chaude, pendant laquelle certaines diatomées ont un optimum plus ou moins marqué; il s'agit de *Melosira granulata*, *M. ambigua*, *Stephanodiscus minutulus*, *C. meneghiniana*. [Pour un aperçu plus détaillé de l'évolution du phytoplancton voir DESCY, 1987]. Les fig.1.1a et 1.1b présentent les variations saisonnières des principaux groupes algaux durant les deux années d'étude.

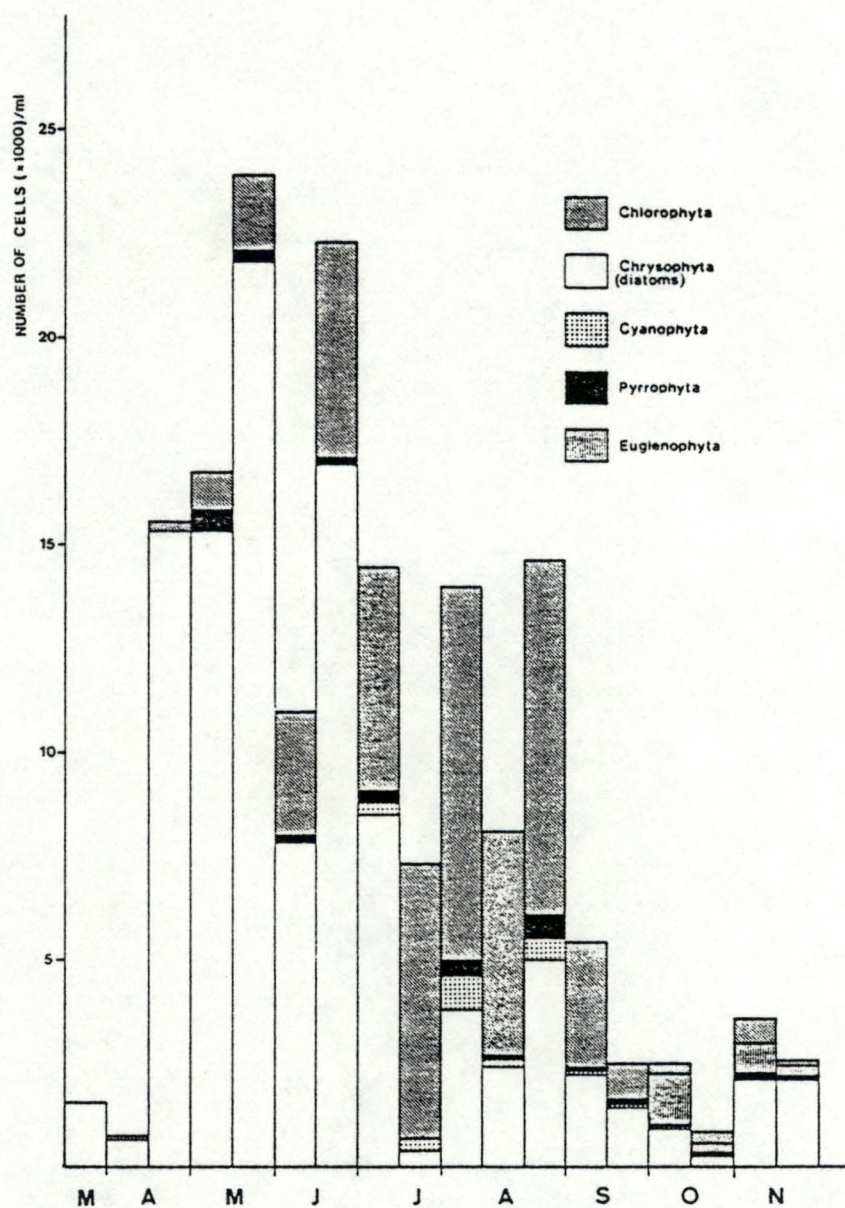


Fig.1.1.b - Variations saisonnières de la densité et de la composition du phytoplancton de la Meuse durant l'année 1984. [DESCY, 1987]

II.2.3. Estimation de biomasse

L'estimation de la biomasse est généralement exprimée en fonction de la concentration en Chla. Toutefois, il paraît important de signaler que celle-ci présente une certaine variabilité. POURRIOT *et al.*(1982) rapportent des rapports Chla/biovolume de communautés phytoplanctoniques oscillant entre 2 et 8 $\mu\text{g Chla.mm}^{-3}$. Il note cependant l'existence de valeurs inférieures à 1 μg et supérieures à 30 μg . Ces variations sont partiellement attribuables aux méthodes de dosage, mais dépendent essentiellement des espèces en présence, de l'état nutritif des cellules ainsi que de l'éclairement. En ce qui concerne l'état nutritif, à la fois dans les cultures unispécifiques et dans les peuplements naturels, la déficience en azote et en phosphore réduit la teneur des algues en Chla. Quant aux intensités d'éclairement dans lesquelles les algues se sont développées, elles interviennent dans une relation inverse avec la Chla. Il s'agit en fait d'un phénomène d'adaptation aux conditions lumineuses, communs aux cultures d'algues et aux populations naturelles. En changeant leur contenu en pigments, les cellules sont capables de réguler leur efficacité photosynthétique. Ce changement n'est cependant pas rapide et il est nécessaire que s'écoule une ou plusieurs générations [cfr HARRIS, 1978]. Les cellules qui ont grandi sous de faibles irradiances ont ainsi une efficacité photosynthétique supérieure à celles s'étant développées sous forte irradiance. Cette efficacité accrue est due au fait que le contenu en pigment des "unités photosynthétiques" (PSU) est relativement plus élevé, mais également à l'optimisation de leur capacité à absorber la lumière. Cependant, quelques algues telle *Cyclotella* paraissent conserver une teneur constante en Chla dans des gammes d'éclairement comprises entre 3 et 30 Klux¹.

Le carbone quant à lui représente une fraction relativement constante de la biomasse, constituant en moyenne 53 ± 5 % du poids organique et 10 - 15 % du poids frais. La croissance résulte ainsi en premier lieu du bilan carboné des cellules, c'est à dire de la différence entre les gains par photosynthèse (P_B) et les pertes par respiration (R). Cette différence représente la production nette (P_N). Cet aspect de la croissance sera largement développé dans la section II.5.

¹. 1 Klux = $19,5 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

II.3. CLIMAT LUMINEUX

II.3.1. Energie lumineuse incidente

La lumière incidente (I_0) subit des pertes, à la surface de l'eau, causées par la réflexion de la surface elle-même. Celle-ci dépend de l'angle d'incidence des rayons solaires, ainsi que, pour une part importante, de l'action des vagues. Cependant, l'importance de l'angle du soleil pour la réflexion est mineure dans les zones tempérées. On admet généralement que les pertes par réflexion sont au maximum de l'ordre de 10% de la lumière incidente.

Les radiations actives pour la photosynthèse (PAR) correspondent au domaine du rayonnement visible (400 - 700 nm). Ces radiations représentent 50% de l'énergie incidente globale. Si on considère en outre les pertes par réflexion, on peut estimer à 46% du rayonnement global l'intensité des PAR immédiatement sous la surface (I'_0).

II.3.2. Transmission de la lumière dans l'eau

Lorsque la lumière pénètre dans l'eau, elle subit un double phénomène de dispersion et d'absorption. L'atténuation qui en résulte est le fait de l'eau pure, des substances dissoutes et des particules en suspension. L'atténuation est propre à chaque longueur d'onde de la lumière. Ainsi, les courtes longueurs d'onde (rouges, infra-rouge) de la PAR sont rapidement absorbées. Toutefois, l'ordre d'extinction des différentes longueurs d'onde montre une certaine variabilité en fonction de la nature et de la concentration des substances présentes dans l'eau.

Une partie plus ou moins importante des matières en suspension peut-être constituée par du phytoplancton, comme nous l'avons déjà mentionné (voir II.2.1). L'atténuation de la lumière qu'il provoque est causée à la fois par l'absorption des pigments et par la dispersion des photons.

L'atténuation verticale du rayonnement lumineux suit approximativement la loi de Beer-Lambert; si on désigne par I'_0 l'intensité juste sous la surface,

l'intensité I_z à la profondeur z est égale à :

$$I_z = I_0' \cdot e^{-\eta z}$$

où η est le coefficient d'atténuation verticale ou coefficient d'extinction. Vollenweider (1974) montre en effet l'existence d'une relation standard entre les coefficients d'extinction des diverses longueurs d'onde et le coefficient d'extinction moyen de la lumière visible, ce qui nous permet d'écrire cette formule.

Notons encore que la valeur générale effective du coefficient d'extinction décroît avec la profondeur croissante.

On désigne par "profondeur euphotique" la profondeur à laquelle le niveau lumineux est inférieur à 1% de l'irradiance de surface. La P_N y est supposée insignifiante. Cette profondeur constitue donc la limite inférieure de la zone photique.

II.4. LOI D'ARRHENIUS ET LOI EN Q_{10} [d'après NOBEL, 1983]

Les réactions enzymatiques de photosynthèse et de respiration, comme toute réaction enzymatique, demandent une certaine énergie d'activation pour pouvoir se produire. Ce concept d'énergie d'activation se réfère à la quantité minimum d'énergie cinétique nécessaire pour franchir la barrière énergétique qui empêche la réaction de se produire. Dans le cas d'une réaction chimique on peut déterminer expérimentalement la manière dont le processus est influencé par la température. Si on représente l'énergie d'activation par mole par A , le taux de réaction (k) d'une telle réaction devrait varier avec la température selon l'équation d'Arrhenius :

$$k = B \cdot e^{-A/RT}$$

où B est le facteur de fréquence indépendant de la température (qui est en fait proportionnel à \sqrt{T}). Cette équation fut à l'origine proposée sur base expérimentale par Arrhenius à la fin du 19^e siècle; elle ne fut interprétée de façon théorique que par la suite.

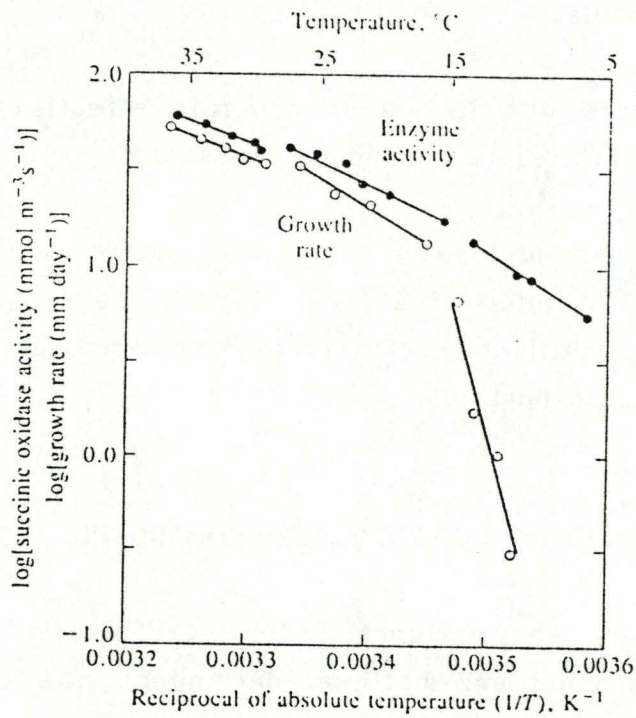


Fig.1.2 - Graphe d'Arrhénius de l'activité succinate oxydase mitochondrial et du taux de croissance de l'hypocotyle et de la racicule de *Vigna radiata*. [Redessiné de RAISON et CHAPMAN, in NOBEL, 1983].

Un graphique du logarithme du taux de réaction contre $1/T$ est appelé "graphe d'Arrhenius" (fig.1.2):

$$\ln k = \ln B - A/RT$$

La pente d'un graphe d'Arrhenius ($-A/R$) peut être utilisée pour déterminer l'énergie d'activation.

La dépendance à la température d'un taux de réaction peut changer à certaines valeurs de température. L'énergie d'activation d'un enzyme peut également changer pour ces mêmes températures. De plus, des changements dans l'organisation des lipides membranaires se produisent à ces températures. En fait, la transition dans les propriétés physiques des membranes (tel un changement en un état plus fluide), qui peut se produire dans une certaine gamme de température, peut être à la base des changements observés dans la pente de la droite (fig.1.2). De tels changements au niveau des membranes peuvent affecter les propriétés catalytiques des enzymes qui y sont localisés, la perméabilité des solutés et la régulation générale du métabolisme cellulaire, qui peut alors affecter la croissance.

Ainsi quand des discontinuités d'Arrhenius se produisent sur une ligne normalement droite, sur un graphe d'Arrhenius d'une activité enzymatique contre l'inverse de la température, elles servent de preuve de la présence d'une membrane associée à l'enzyme de la réaction. Quand la discontinuité se produit au même endroit pour deux réactions différentes, cela sert de preuve du fait que les membranes impliquées sont les mêmes ou similaires. Si la discontinuité se produit à un endroit différent sur les graphes d'Arrhenius de deux processus, cela apporte la preuve que les membranes sont différentes.

Le Q_{10} ou coefficient de température d'une réaction est défini comme le rapport :

$$Q_{10} = \frac{\text{taux de réaction à } T + 10^{\circ}\text{C}}{\text{taux de réaction à } T}$$

Puisque dans l'équation d'Arrhenius, B est proportionnel à \sqrt{T} , nous avons, après transformation, que :

$$Q_{10} = \sqrt{\frac{T+10}{10}} \cdot C^{10A/[RT(T+10)]}$$

Pratiquement, le Q_{10} est calculé par régression linéaire sur les valeurs mesurées d'une activité enzymatique mises en graphique en fonction de la température.

II.5. PRODUCTION PRIMAIRE ET PROFILS DE PHOTOSYNTHESE

II.5.1. Définition de la production primaire

L'activité photosynthétique correspond au taux de production de matières organiques par la photosynthèse (ou production) brute (P_B). La P_B vraie est donc le taux de transformation de l'énergie radiante en énergie chimique, accompagnée par les conversions équivalentes de dioxyde de carbone et d'eau en carbone organique et oxygène. Cette activité photosynthétique (ou productivité) dépend essentiellement de deux facteurs :

- 1) l'éclairement, selon une fonction $P = f(I)$
- 2) la capacité des organismes présents à utiliser l'énergie lumineuse disponible.

La production nette (P_N) 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 intracellulaires).

La biomasse s'accroît donc lorsque la P_B excède les pertes. Ces pertes sont généralement négligées, ce qui introduit une erreur significative. La biomasse du phytoplancton (B) résulte à chaque instant d'un bilan entre les gains par photosynthèse (P) et les pertes par respiration (R), excrétion (E), sédimentation (S), prédation (G), mortalité naturelle (M) et exportation (L), selon une équation :

$$\frac{dB}{dt} = B (p - r) - (E + S + G + M + L)$$

où p et r représentent respectivement les taux d'activité photosynthétique et de respiration.

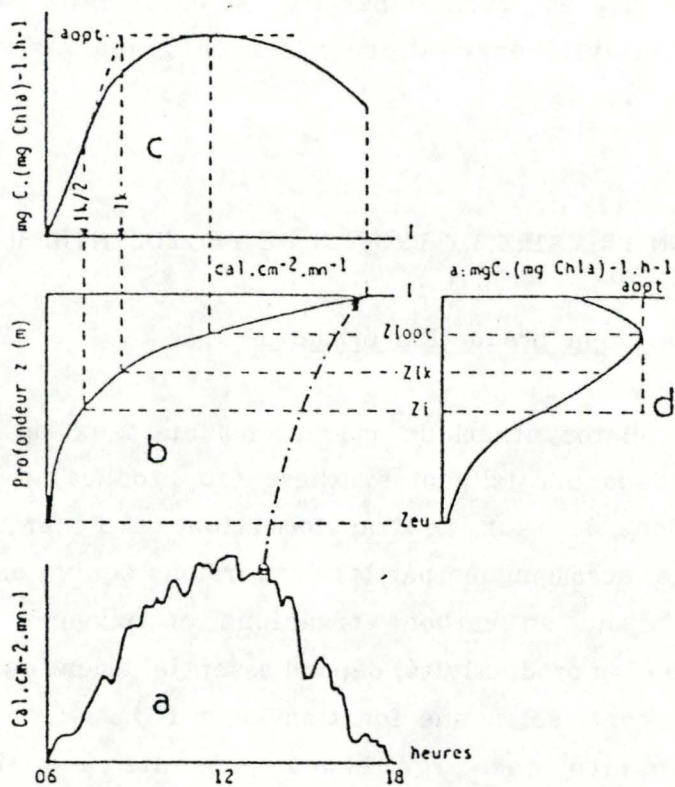


Fig.1.3 - Intensité de l'éclairement en surface (courbe a), extinction des rayonnements en profondeur (courbe b) et relation photosynthèse-lumière (courbe c) déterminent à chaque instant l'activité photosynthétique du phytoplancton en fonction de la profondeur (courbe d). [POURRIOT et al., 1982]

II.5.2. Relation photosynthèse - lumière (fig.1.3)

Comme nous venons de le dire, le taux de photosynthèse d'une communauté naturelle dépend de la quantité moyenne de lumière reçue dans la partie visible du spectre selon une fonction $p = f(I)$. Cette fonction décrit une courbe de type "courbe de saturation". Différentes expressions mathématiques de celle-ci ont été décrites, notamment par SMITH (1936), TALLING (1957), VOLLENWEIDER (1965), PLATT (1981). Afin de minimiser le nombre de paramètres à prendre en compte, nous utiliserons une forme simplifiée de l'équation de VOLLENWEIDER, qui tient compte d'une éventuelle photoinhibition [DESCY *et al.*, 1987] :

$$P_{(z,t)} = 2 K_{opt} \cdot B \cdot \frac{I_{(z,t)}/2I_k}{1 + [I_{(z,t)}/2I_k]^2}$$

où $P_{(z,t)}$ est le taux de photosynthèse à la profondeur z et au temps t
 $I_{(z,t)}$ est la PAR à la profondeur z et au temps t

$K_{opt} = \frac{P_{opt}}{B}$ est le taux spécifique d'assimilation du carbone inorganique

I_k est l'irradiance à la profondeur à laquelle la saturation de la lumière est détectée, ou "constante de saturation".

Dans notre analyse de la relation photosynthèse-lumière, nous reprendrons dans les grandes lignes la synthèse de HARRIS (1978) à ce sujet.

1. Photosynthèse en lumière limitante ($I < I_k$)

Aux faibles éclairagements, la photosynthèse est proportionnelle à l'énergie lumineuse absorbée par la Chl_a et les pigments annexes. Cette relation linéaire reflète l'activation d'un nombre croissant de centres réactionnels. La limite supérieure est définie par le rendement quantique maximal qui est de 8 quantas par molécule de CO₂ : soit une efficacité maximale de 35%.

Dans une population naturelle, le rendement sera conditionné par différents facteurs :

1/ L'adaptation du phytoplancton aux conditions d'éclairement, c'est à dire le mécanisme responsable des variations de quota des cellules en pigments. On remarque de manière évidente que les populations atteignant des efficacités photosynthétiques plus faibles, présentent une certaine réduction dans leur contenu pigmentaire et même une certaine contraction des plastides eux-mêmes. JORGENSEN [1977, in REYNOLDS, 1984] distingue deux types d'algues :

- "type *Chlorella*" dont la teneur en Chl_a et la pente initiale (k) varient avec les conditions qui ont présidé à la croissance.
- "type *Cyclotella*" dont la teneur en Chl_a et la pente (k) restent constants, tandis que P_{opt} augmente lorsque les algues sont adaptées à de fortes intensités lumineuses.

2/ La nature du phytoplancton dont dépendent les proportions de Chl_a et de pigments annexes.

3/ Le spectre de l'énergie lumineuse en profondeur qui dépend des qualités optiques de l'eau.

2. Photosynthèse en lumière saturante ($I > I_k$)

Au fur et à mesure que l'intensité lumineuse augmente, P tend vers un plateau (P_{opt}) représentant une saturation des réactions photochimiques. Puisqu'elles sont enzymatiques, ces réactions dépendent de la température. La relation entre P_{opt} et la température présente un Q₁₀ de l'ordre 1,73 pour la Meuse [DESCY *et al.*, 1987]. K_{opt} est de plus fonction de la composition spécifique du phytoplancton [DESCY *et al.*, 1987].

En effet, la capacité photosynthétique des algues (P_{opt}) varie avec

1/ la biomasse du phytoplancton, l'augmentation de densité diminuant généralement la valeur de P_{opt}.

2/ la taille moyenne des éléments du plancton, le nanoplancton se révélant beaucoup plus actif que le microplancton.

Il existe une relation inverse, de type allométrique, entre la

taille des algues et leur capacité photosynthétique. La diminution de la teneur des cellules en Chl a avec la densité croissante du phytoplancton et l'augmentation des rapports surface/volume et Chl a/C lorsque la taille des cellules diminue, semblent être des causes possibles de ces variations.

3/ l'adaptation préalable des algues à un éclairage donné : les algues adaptées à de faibles intensités lumineuses ont une capacité photosynthétique inférieure à celle des algues adaptées à de fortes intensités lumineuses.

Le comportement photosynthétique peut varier avec l'âge et l'histoire des populations. Des changements dans le comportement photosynthétique peuvent être dus à deux mécanismes : l'altération du contenu des pigments qui influence la courbe de limitation à la lumière, ou des changements au niveau enzymatique de la photosynthèse, altérant les taux maxima de photosynthèse.

En outre, quelques résultats indiquent que la capacité photosynthétique des algues dépend autant des conditions nutritives que de la température, ce qui justifie la distinction entre P_{\max} et P_{opt} .

Ainsi, la courbe passe d'une portion linéaire dépendante de l'intensité lumineuse à un plateau saturé par la lumière et dépendant de la température. Le point de transition correspond à l'intensité I_k égale par définition au rapport P_{opt}/k et pour laquelle $P/P_{\text{opt}} = 0,71$. Graphiquement, I_k correspond donc à l'intensité à laquelle l'extrapolation de la courbe P-I limitée par la lumière, prédit que P_{\max} observé se produira. Les variations de I_k reflètent ainsi l'influence combinée de P_{opt} et de k et de ce fait varie avec :

1/ la température de la même façon que P_{opt}

2/ le contenu des algues en pigments c'est-à-dire avec les espèces présentes, leur conditionnement à la lumière et leur état nutritif.

Les valeurs de I_k se maintiennent toutefois dans une plage assez étroite, comprise le plus souvent entre 10 et 20% de l'intensité de surface à midi.

On peut encore remarquer que pour une efficacité photosynthétique en lumière limitante donnée, on peut s'attendre à une certaine variation

saisonnaire de I_k . Il y a par contre peu de preuves d'une adaptation à la lumière (changement de I_k) sur un cycle de 24 heures mais on a démontré l'existence d'horloges internes qui changent certaines constantes de prise d'éléments nutritifs durant le jour, affectant donc indirectement le taux de photosynthèse.

3. Photoinhibition

Généralement, aux fortes intensités lumineuses, près de la surface, les algues subissent une photoinhibition. Celle-ci se caractérise par une dépression dans le profil de photosynthèse et est influencée par la qualité, la quantité et la durée de l'éclairement. Cependant les causes ne sont pas toujours claires et ne sont pas les mêmes dans tous les cas.

Le premier facteur, d'ordre qualitatif, est l'effet des UV. Ceux-ci montrent un effet inhibiteur direct sur le système photochimique et peuvent endommager les structures organiques de la cellule, y compris les thylacoïdes et la chlorophylle, et provoquer la contraction des plastides; on a une photoauto-oxydation des pigments. Une concentration élevée en oxygène peut accélérer le processus.

L'effet quantitatif correspond à une réduction de la photosynthèse en fonction de l'intensité lumineuse. L'effet du préconditionnement des algues à la lumière joue cependant également un rôle, l'adaptation aux faibles intensités augmentant la sensibilité aux fortes intensités. Le début de la photoinhibition se produit à des intensités variables, mais généralement inférieures à $800 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ PAR. Ainsi les taux de photosynthèse proches de la surface diminuent en relation avec P_{opt} quand l'intensité de surface excède $200 - 800 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ PAR et l'inhibition devient totale quand I_0 est supérieure à $1400 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ PAR.

L'effet de durée apparaît lors d'expositions prolongées des algues planctoniques à une lumière saturante qui réduit progressivement les taux photosynthétiques. Les algues peuvent tolérer des intensités sublétales pendant de courtes périodes mais la réduction des taux de fixation de carbone se produit généralement au bout de quelques minutes. La récupération par contre demande souvent le renouvellement de la synthèse de chlorophylle, la réexpansion des chloroplastes contractés, le remplacement

des thylacoïdes et la réactivation des photosystèmes, tout cela étant particulièrement lent.

Quelques résultats suggèrent par ailleurs que la sensibilité des algues aux forts éclaircissements est accrue lorsque les conditions thermiques et nutritives s'éloignent de l'optimum. Ceci pourrait résulter d'une augmentation de pertes par photorespiration et excrétion, processus difficilement dissociables de la photoinhibition dans les mesures (voir II.6.3.)

II.5.3. Variation de la photosynthèse en profondeur

Les profils verticaux de photosynthèse (fig.1.3) décrivent la variation de la P_B avec la profondeur. Ils résultent de la combinaison des fonctions (I) et (Z) et de la distribution de la biomasse de phytoplancton dans la colonne d'eau.

On distingue généralement deux situations en fonction de la position de la profondeur de mélange (Z_m) par rapport à la profondeur euphotique (Z_{eu}). En effet, un milieu stratifié ($Z_m < Z_{eu}$) donne lieu à des profils irréguliers, étant donné que les couches d'eau contenant les communautés de phytoplancton sont séparées et adaptées à des conditions d'éclaircissement différentes. Dans le cas de milieux homogènes, comme la Meuse, les profils de photosynthèse par unité de volume suivent la photosynthèse par unité de biomasse et sont déterminés uniquement par la combinaison des fonctions $P = f(I)$ et $I = f(Z)$.(fig.1.3)

II.5.4. Variations journalières et saisonnières de la photosynthèse

La durée de l'éclaircissement semble jouer, sur la variation de P_B journalière, un rôle plus important que l'intensité; le phytoplancton peut compenser une réduction d'éclaircissement par des adaptations.

La durée du jour détermine également la valeur de P_N et par conséquent le taux de croissance de la biomasse. L'évolution saisonnière de la production suit donc globalement celle de la biomasse. Cependant, lorsque le phytoplancton est intensément exploité par le zooplancton, le

Tableau 1.1

Respiration "sombre" "spécifique" de communautés planctoniques, mesurée sur le terrain.
[LE CREN et LOWE-McCONNELL, 1980].

Lake	Respiration $C_{com, d}$ ($mg\ O_2(mg\ chl.\ a)^{-1}\ h^{-1}$)	Relative to max. photo- assimilation r	Reference
Aranguadi, Ethiopia	~ 1	0.05-0.09	Talling <i>et al.</i> (1973)
Kilotes, Ethiopia	~ 1	0.06-0.3	Talling <i>et al.</i> (1973)
George, Uganda	0.2-4.5	0.01-0.22	Ganf (1974c)
Jezárko Pond, Czech.*	0.3-1.8(7.6)		Fott (DR 10)
Loch Leven, Scotland	0.1-4.0	0.07-0.5	Bindloss (1974)
Lough Neagh, Ireland	0.06-2.9	0.02-0.12	Gibson (1975)
Queen Mary Res., England	0.5-3.5	0.04-0.10	Jewson (1976) Steel (1978)
Tjeukemeer, Holland	~ 1-3(+)	0.05-0.10	Golterman <i>et al.</i> (DR 21)
Windermere, England	~ 1	0.02-0.10	Talling (1957a)

r : taux de respiration relatif au maximum de photoassimilation.

a : chlorophylle non corrigée concernant les phéopigments.

(+) : respiration bactérienne reconnue comme étant très élevée.

taux de photosynthèse reste élevé tandis que la biomasse varie peu ou décline.

Notons encore qu'une augmentation brutale de I_0 (intensité lumineuse juste sous la surface) ne se traduit pas forcément par celle de la P_B journalière, étant donné qu'à une période de faibles intensités peut correspondre une augmentation de l'efficacité d'utilisation des faibles éclairagements, accompagnée d'une sensibilité accrue aux fortes lumières. Parallèlement, une diminution d'intensité en surface ne conduit pas forcément à une moindre photosynthèse sur la colonne d'eau, si la décroissance d'inhibition de surface a des effets plus grands que la décroissance de photosynthèse causée par des intensités moindres en profondeur.

De manière globale, durée et intensité déterminent les variations saisonnières de la P_B (voir II.2.2.).

II.6. RESPIRATION

Dans ce chapitre, nous détaillerons l'approche tenue traditionnellement en ce qui concerne la respiration.

II.6.1. Facteurs de variabilité de la respiration

Les modèles de production du phytoplancton qui incorporent des taux de respiration expriment généralement la respiration comme une fraction du taux maximum de P_B . Une sélection de taux de respiration relatifs à la P_B est donnée au tableau 1.1. 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 influencé par l'histoire lumineuse antérieure des cellules
- est nettement inférieure sous conditions de stress chez les algues bleues.

De plus, le taux de respiration par unité de biomasse est inversement proportionnel à la taille des cellules.

La respiration augmente avec la température avec un Q_{10} de l'ordre de 2,5, ce qui est fort proche du Q_{10} trouvé pour la photosynthèse. Cependant, les relations avec la température sont parfois peu nettes ou inexistantes, et variables selon les espèces; certaines adaptations respiratoires sont possibles, particulièrement parmi les populations de diatomées. De tels résultats sont en partie imputables aux variations des teneurs en chlorophylle du phytoplancton : celles-ci diminuent lorsque la température et la luminosité augmentent ou dans des conditions nutritives défavorables. A cette diminution correspond donc une augmentation apparente de la respiration cellulaire si celle-ci est exprimée par mg de Chl a comme c'est souvent le cas. Ainsi, des ajustements en chlorophylle cellulaire et en contenu de protéines semblent provoquer de larges fluctuations des taux de respiration.

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.

II.6.2. Valeurs de la littérature

Nous trouvons dans la littérature différentes valeurs de taux respiratoires. Dans les eaux naturelles, la respiration est généralement estimée dans une gamme de 0,04 à 0,1 P_{max} , ce qui correspond à un taux spécifique de respiration compris entre 0,1 et 2,0 $mg\ O_2.(mg\ Chl\ a)^{-1}.h^{-1}$. POURRIOT *et al.*(1982) indiquent des taux respiratoires spécifiques variant entre 0,05 et 4,5 $mg\ O_2.(mg\ Chl\ a)^{-1}.h^{-1}$, avec 70% des valeurs mesurées sur des communautés naturelles se situant entre 0,2 et 1,2 $mg\ O_2.(mg\ Chl\ a)^{-1}.h^{-1}$. REYNOLDS (1984) pour sa part rapporte, pour des expériences in situ des valeurs inférieures atteignant environ 0,1 $mg\ O_2.(mg\ Chl\ a)^{-1}.h^{-1}$ ou environ $1/22\ P_{max}$, et des taux spécifiques se situant typiquement entre 0,1 et 2,0 $mg\ O_2.(mg\ Chl\ a)^{-1}.h^{-1}$.

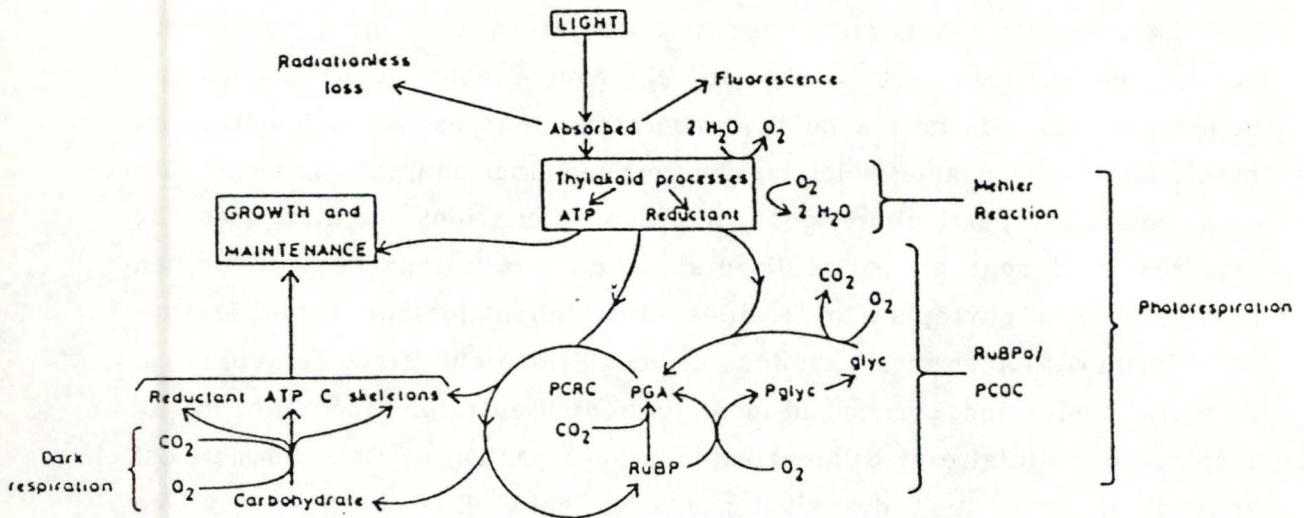


Fig.1.4 - Schéma général des voies d'énergie, de carbone et d'oxygène dans la photosynthèse, la photorespiration, la respiration "sombre" et la croissance du phytoplancton

PCOC : cycle d'oxydation du carbone de la photorespiration

PCRC : cycle d'oxydation du carbone photosynthétique

PGA : 3 - phosphoglycérate [PLATT, 1981]

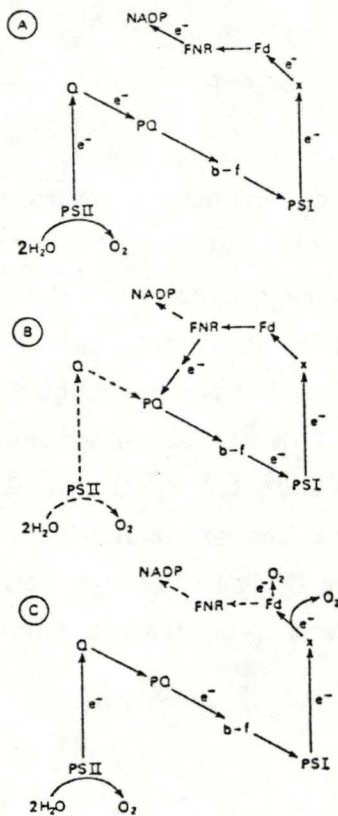


Fig. 1.5 - Diagramme montrant les voies de flux d'électrons (A) cyclique, (B) non cyclique et (C) pseudocyclique, dans les chloroplastes. [FOYER, 1984]

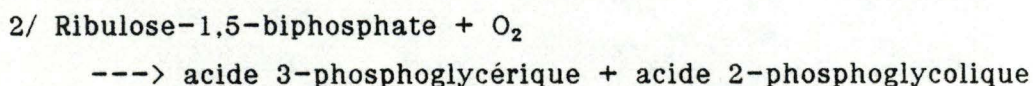
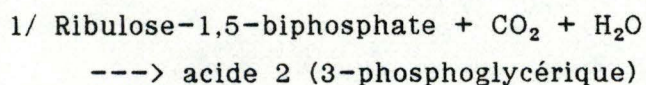
II.6.3. La photorespiration

Un autre phénomène de consommation d'oxygène interfère avec la respiration sombre : la photorespiration. La photorespiration est un processus photo-induit se produisant sous faibles concentrations en CO_2 . En réalité, elle consiste en deux types de réactions distinctes : la réaction de Mehler qui réalise une ré-oxydation des intermédiaires redox des "réactions claires" de la photosynthèse, et la consommation d' O_2 par le composé ribulose biphosphate carboxylase-oxygénase (RuBPC-O). Un schéma simplifié présente les différents processus "respiratoires" en relation avec la photosynthèse à la figure 1.4. [PLATT, 1981].

La réaction de Mehler consiste en un flux pseudocyclique d'électrons (fig.1.5). Il s'agit d'une consommation d' O_2 stimulée par la lumière qui dépend du photosystème II et probablement aussi du photosystème I [PLATT, 1981]. Cette réaction est impliquée dans la dissipation de l'énergie d'excitation fournie à l'appareil photochimique lorsque celle-ci risquerait de provoquer une accumulation dangereuse de chlorophylle excitée pouvant conduire à la formation de composés toxiques tel l' H_2O_2 . Ce rôle de dissipation d'énergie de la réaction de Mehler se produit normalement aux irradiances qui excèdent celles auxquelles la lumière limite la formation des composés essentiels à la croissance et au maintien cellulaires, c'est à dire lorsque la teneur en NADP n'est pas suffisante. Cette réaction intervient également pour fournir l'ATP nécessaire à la réduction du CO_2 (rôle également tenu par le flux cyclique d'électrons entre les deux photosystèmes) [FOYER, 1984]. Toutefois, on a montré que la réaction de Mehler constitue un mécanisme imparfait de dissipation d'énergie sous certaines conditions. Elle est par ailleurs impliquée dans la production de composés toxiques, radicaux d'oxygène et H_2O_2 . Finalement, en déchargeant la chaîne de transporteurs d'électrons de ses électrons superflus, cette réaction pourrait intervenir dans la régulation des équilibres redox et permettrait une activité optimale des voies de phosphorylation cyclique et non-cyclique.

Une voie importante d'incorporation possible d' O_2 à la lumière est la synthèse et le métabolisme du glycolate. Cette synthèse de glycolate se fait principalement via l'activité oxygénasique de l'enzyme principal de la photosynthèse, le ribulose biphosphate carboxylase-oxygénase (RuBPC-o, E.C.4.1.1.39). Cet enzyme, en plus de son activité de catalyse de la

carboxylation (RuBPc-o, équation 1), catalyse également une activité oxygénase (RuBPo, équation 2) :



Le phosphoglycolate produit dans la réaction (2) est ensuite converti en glycolate qui peut être excrété ou métabolisé via le cycle d'oxydation de la photorespiration. La présence de l'activité RuBPo chez le phytoplancton a été mise en évidence de deux manières : par la démonstration de la stoechiométrie de l'équation (2) *in vitro* et par l'utilisation d'oxygène marqué ($^{18}\text{O}_2$) *in vivo*. Une large fraction de la synthèse de glycolate serait le résultat de l'activité de la RuBPo des algues, sans toutefois que celle-ci soit la source unique de glycolate. Il est possible de déterminer le rapport de l'activité RuBPc sur RuBPo en connaissant les rapports des concentrations des deux substrats compétitifs, O_2 et CO_2 . Concernant la justification de l'activité RuBPo, on ne peut avancer la synthèse de glycine et de sérine par le cycle de la photorespiration puisqu'il existe d'autres voies de synthèse de ces composés [TOLBERT, 1974 in PLATT, 1981]. L'utilité majeure de la RuBPo, et son association avec le cycle de Calvin, semble être un moyen de dissipation de l'énergie lorsque le taux d'absorption de lumière dépasse le taux auquel l'énergie peut être utilisée pour la fixation du carbone par le cycle de Calvin, c'est à dire lorsqu'on a un rapport CO_2/O_2 faible [PLATT, 1981].

La photorespiration des algues correspond au processus respiratoire responsable de la dépression de la photosynthèse du voisinage de la surface, due à des conditions de fortes luminosités, de sursaturation en oxygène et de déficit en CO_2 [POURRIOT *et al.*, 1982]. Ces conditions augmentent également l'excrétion, une partie de la P_N 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].

On ne dispose pas de données écologiques sur la photorespiration. Cependant LEX *et al.* [1972, in LE CREN et LOWE-McCONNELL, 1980] ont montré pour une algue bleue que la photorespiration pouvait représenter vingt fois le taux de respiration "sombre" et atteindre le taux de photoassimilation¹ sous conditions optimales.

II.6.4. Conclusions

Nous voyons donc que la respiration montre de larges variations et pas nécessairement proportionnellement au taux de photosynthèse; les mesures réalisées sur des communautés naturelles vont dans ce sens. L'hypothèse généralement tenue que la respiration est une fraction constante de la P_b est donc douteuse. Les valeurs recueillies sont toutes obtenues à partir de détermination de respiration de communautés dans des bouteilles sombres mesurant la consommation d'oxygène et sont, étant donné l'intervention d'autres facteurs et la contribution bactérienne et zooplanctonique, une surestimation de la respiration algale. On en est d'autant plus éloigné que la sensibilité limitée de la mesure oblige à recourir à des incubations prolongées dans des milieux peu productifs. Quelques auteurs ont tenté d'exprimer la contribution du métabolisme bactérien et la respiration du zooplancton à la consommation de communauté; les valeurs varient entre 10 et 50% selon les types d'eau. REYNOLDS (1984) souligne que l'incertitude majeure concernant la respiration reste la signification de la photoinhibition : se produit-elle dans tous les cas, dans les cellules rapidement transportées dans ou à l'extérieur des profondeurs exposées à des intensités saturantes? Ainsi, les estimations de production restent approximatives en raison du manque d'information sur la respiration.

L'utilisation d'analyses enzymatiques pour mesurer la respiration de communautés, d'inhibiteurs chimiques spécifiques et d'antibiotiques pour fractionner la respiration des communautés ont fait l'objet d'études relativement récentes en écologie.

¹. La photoassimilation est définie comme la P_b moins la photorespiration [LE CREN et LOWE-McCONNELL, 1980]

Il nous a semblé intéressant d'approfondir l'étude de la respiration afin de pallier les lacunes de l'étude de la production primaire. L'angle de l'analyse enzymatique nous a semblé intéressant. Dans la section III. nous aborderons donc plus spécifiquement ce point. Nous commencerons par détailler le mécanisme de la respiration, à son niveau biochimique.

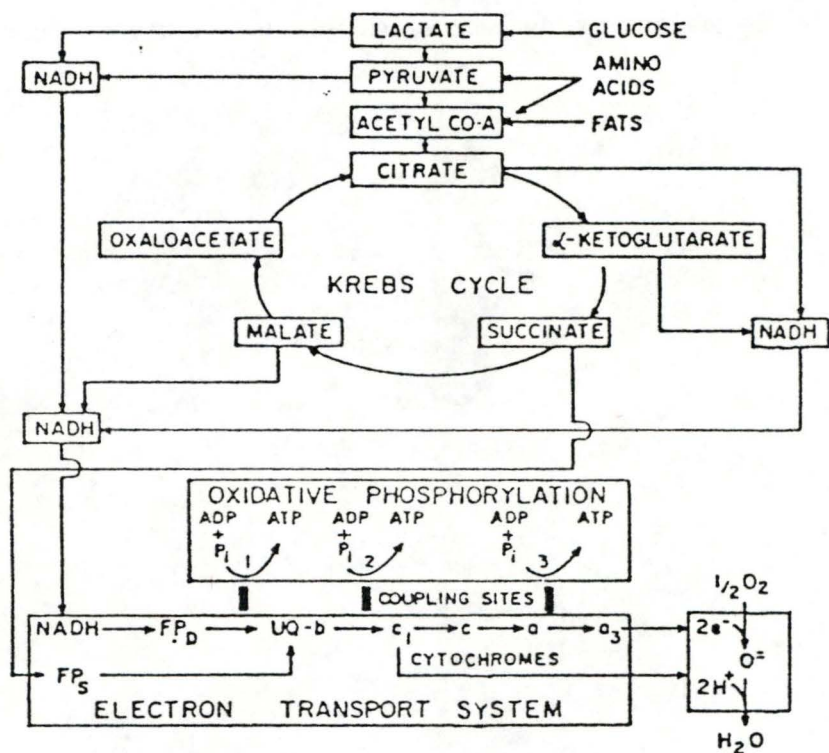


Fig.1.6 - Système de transport d'électrons et ses relations avec le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative.

UQ-b = complexe ubiquinone - cytochrome b

FP_D = flavoprotéine (système NADH réductase)

FP_S = flavoprotéine (système succinate déshydrogénase)

ADP = adénosine diphosphate

ATP = adénosine triphosphate [PACKARD, 1971]

III. LA RESPIRATION

L'essentiel de cette partie est tirée de la synthèse sur le sujet de PACKARD (1985). Nous y aborderons le problème de l'estimation du taux de consommation de l'oxygène par le phytoplancton en mesurant la base chimique de la respiration, à savoir les systèmes de transport d'électrons respiratoires des organismes.

III.1. LE SYSTEME DE TRANSPORT D'ELECTRONS (ETS) ET SON CONTROLE A TRAVERS LA CELLULE

III.1.1. Composés et fonctions

La phosphorylation oxydative est la réaction largement responsable de la consommation d'oxygène. Elle est réalisée par le système de transport d'électrons (ETS) (fig.1.6) dans la membrane interne des mitochondries d'eucaryotes et dans la membrane cellulaire des procaryotes. Le système de phosphorylation oxydative consiste en quatre complexes ETS, plus un cinquième consacré exclusivement à la phosphorylation. Le premier et le second sont la NADH déshydrogénase (EC 1.6.99.3) et la succinate déshydrogénase (SDH; EC 1.3.99.1); toutes deux transfèrent des équivalents réduits à l'ubiquinone. Le troisième complexe (EC 1.10.2.2) est composé des cytochromes b_{562} , b_{566} , et c_1 , et de protéines Fer-Soufre non hémiques tandis que le quatrième complexe est la cytochrome *c* oxydase (ferrocyclochrome *c*, O_2 oxydoréductase : EC 1.9.3.1). Ces deux complexes transfèrent les électrons linéairement de l'ubiquinone sur l'oxygène. Le cinquième complexe est l'ATP-ase mitochondriale (F_0F_1 -ATPase).

Le médiateur ultime entre les complexes ETS et l'oxygène est la cytochrome oxydase. Cependant celle-ci ne constitue pas l'étape limitante de la consommation d'oxygène; la NADH déshydrogénase et la SDH

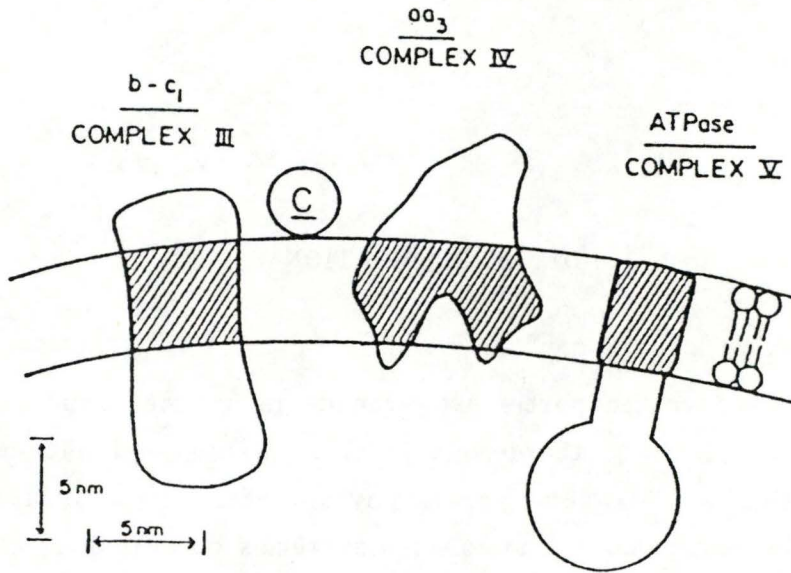


Fig.1.7 - Deux complexes de transport d'électrons respiratoires (III et IV) et ATPase (complexe V) enfoncés perpendiculairement à la double couche lipide-protéine de la membrane interne mitochondriale. Le cytochrome c est présenté comme un transporteur d'électrons périphérique migrant librement entre la cytochrome oxydase (aa₃) et l'ubiquinol-cytochrome c réductase (b-c₁), du côté cytosolique de la membrane. [redessiné de HACKENBROCK, 1981 in PACKARD, 1985]

ELECTRON TRANSPORT IN MICROPLANKTON

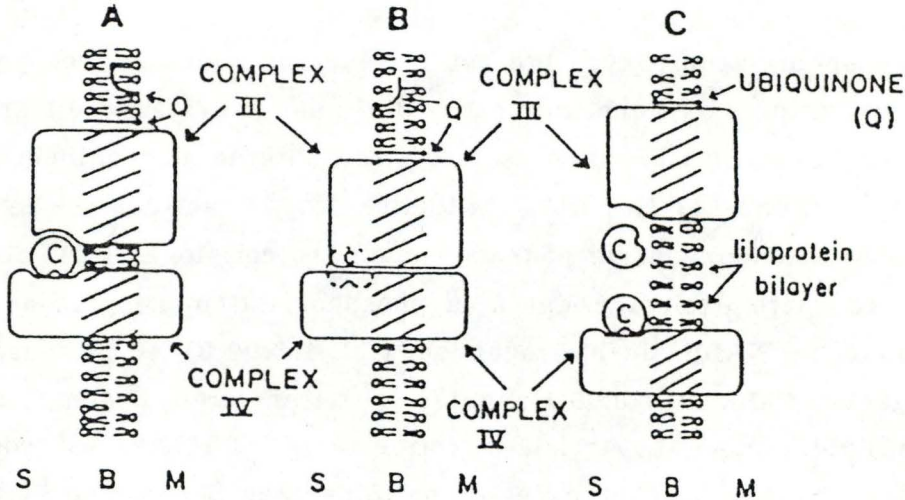


Fig.1.8 - Trois configurations possibles de la cytochrome c oxydase (complexe IV) et de la cytochrome c réductase (complexe III) dans la double couche lipidique de la membrane mitochondriale interne. En (A), le transfert d'électrons entre les complexes est accompli par le cytochrome c qui effectue une rotation sur lui-même. En (B), il est accompli par l'interaction directe, protéine à protéine, entre les complexes. En (C), il est accompli par la migration rapide du cytochrome c à la surface de la double couche lipidique comme à la figure 1.7.

(Abréviations : S = côté cytosolique, M = côté de la matrice, B = core central hydrocarboné de la double couche de la membrane interne mitochondriale) [redessiné de MITCHELL, 1980 in PACKARD, 1985].

remplissent ce rôle. CHANCE et WILLIAMS [1955 a,b, 1956, in PACKARD, 1985] ont démontré cela en calculant les constantes de premier ordre pour chacune des étapes de l'ETS. Ils ont montré que la réaction d'oxydo-réduction entre les complexes déshydrogénases et l'ubiquinone se produisait à un taux inférieur de moitié de celui de l'oxydation à la fin de la cytochrome *c* oxydase. Ceci indique que la consommation d'oxygène ne peut se produire qu'au taux maximum de transfert des électrons des complexes déshydrogénases à l'ubiquinone.

Le rôle du système de transport d'électrons est de stimuler la production d'ATP et de chaleur en même temps que de compléter le processus par lequel les cellules oxydent les graisses, les lipides et les carbohydrates en dioxyde de C et en eau. En remplissant ce rôle, l'ETS couple la consommation d'oxygène et la production d'ATP. Les quatre premiers complexes transfèrent les équivalents réduits par la glycolyse et le cycle de l'acide tricarboxylique à l'O₂, et le cinquième complexe estérifie l'ADP en ATP. Chacune de ces sous-unités de l'ETS peuvent être isolées et étudiées indépendamment les unes des autres. Elles ne sont pas arrangées en séquence linéaire comme une chaîne mais distribuées au hasard dans le plan de la membrane mitochondriale interne (fig.1.7 et 1.8). Elles sont orientées avec leur long axe perpendiculaire au plan de la membrane et avec 70-83% de leur masse s'étendant dans l'espace du cytosol et de la matrice de chaque côté de la membrane. De plus elles peuvent migrer dans le plan de la membrane en réponse à des forces électrophorétiques. L'ubiquinone et le cytochrome *c* étant les plus petits des quatre complexes migrent plus vite (fig.1.8). Le transfert d'électrons est accompli par collision du cytochrome *c* mobile entre les complexes III et IV et par collision de l'ubiquinone mobile entre les complexes I,II et III (fig.1.8). CAPALDI [1982, in PACKARD, 1985] a calculé que le cytochrome *c* pouvait collisionner à la fois le complexe III et IV en un seul parcours de l'ETS (50-100 msec/e⁻/cyt *c* oxydase).

III.1.2. Contrôle

L'ATP généré par la mitochondrie est essentiellement utilisé à l'extérieur de celle-ci, dans le cytosol ou les membranes. Il doit donc exister des mécanismes pour communiquer les besoins d'énergie de la cellule à la mitochondrie. L'enzyme adénine nucléotide translocase, située

dans la membrane mitochondriale interne, transfère l'ADP, forme dégradée de l'ATP, et l'ATP à travers la membrane mitochondriale.

L'état stable normal d'une cellule est l'état de repos qui se situe en deçà de la capacité maximale de production d'énergie. Cet état demande une balance dynamique entre production et consommation d'ATP.

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour le contrôle de la production d'ATP. CHANCE et WILLIAMS en 1955 [in PACKARD, 1985] suggèrent l'ADP comme régulateur respiratoire pour la mitochondrie. L'hypothèse du potentiel de phosphorylation pour sa part propose que la consommation d'oxygène respiratoire réponde aux changements dans le rapport $[ATP]/([ADP][Pi])$ ou potentiel de phosphorylation. Cette hypothèse considère que la capacité de la translocase est plus grande que celle des protéines de l'ETS et n'est donc pas limitante. L'hypothèse de la translocase quant à elle, postule que la respiration est régulée par le taux d'échange, par les nucléotides au niveau de la membrane mitochondriale interne. Elle considère le phosphate inorganique (Pi) comme non limitant et envisage une inhibition par l'ATP extra-mitochondriale et une activation de l'activité de translocation par l'ADP. C'est donc dans cette hypothèse le paramètre ATP extra-mitochondriale/ADP qui est le paramètre de régulation respiratoire et la translocase son détecteur.

JACOBUS *et al.* [1982, in PACKARD, 1985] ont mené une série d'expériences afin de vérifier les trois hypothèses. Ils ont proposé, pour corroborer CHANCE, que la respiration soit contrôlée par la disponibilité en ADP extra-mitochondrial et par les cinétiques des translocateurs. Leurs résultats posent la question de la validité de l'hypothèse du potentiel de phosphorylation aussi bien que du rôle du rapport ATP/ADP dans l'hypothèse des translocateurs mais démontrent le contrôle respiratoire effectif par l'ADP extra-mitochondrial.

III.2. L'ETS CHEZ LES ORGANISMES AQUATIQUES

Tous les organismes vivants qui réalisent la respiration possèdent un ETS. Toutefois, celui-ci peut présenter quelques particularités. Nous nous proposons de parcourir rapidement les différences essentielles des ETS des organismes aquatiques.

III.2.1. Les procaryotes

1. Les bactéries hétérotrophes

La phosphorylation oxydative se produit dans le plasmalemme et est organisée de manière similaire à l'ETS des eucaryotes. Cependant, l'oxydase terminale est souvent additionnée d'autres oxydases telles les cytochromes *o*, *d*, *z*, et *c_{co}*. Chez les bactéries gram positives, l'ubiquinone est souvent accompagnée ou remplacée par la ménaquinone. Le cytochrome *c* peut être manquant chez ces bactéries et l'ETS branché pour s'adapter à diverses oxydases terminales.

2. Les bactéries marines préfèrent le NADPH comme donneur d'électrons pour l'ETS et possèdent une chaîne de cytochromes inhabituels qui les rend capables d'utiliser les nitrates, les nitrites et les oxydes nitrogénés aussi bien que l'oxygène comme accepteurs d'électrons.

3. Les cyanobactéries ou cyanophycées sont un sujet difficile pour l'étude du transport d'électrons, non seulement parce que, comme les bactéries, elles n'ont pas d'organites respiratoires spéciaux tels que les mitochondries, mais encore parce que leur ETS respiratoire doit être étudié à travers le masque des pigments photosynthétiques. On a récemment mis en évidence l'association unique entre le système de transport d'électrons de la respiration et de la photosynthèse. Les deux processus partagent la même quinone, la plastoquinone ou la phylloquinone, et le même cytochrome *c*, le cytochrome *c₅₅₃*. On ignore encore s'ils sont tous deux localisés ensemble sur la membrane thylacoïdienne ou s'ils partagent simplement les transporteurs d'électrons. Toutefois, des discontinuités d'Arrhenius similaires dans la dépendance à la température de l'ETS photosynthétique comme de l'ETS respiratoire, suggèrent un site commun chez *Anacystis nidulans*, mais chez *Anabaena variabilis*, les discontinuités d'Arrhenius apparaissent en des endroits différents. En tous cas, il est actuellement établi que l'ETS photosynthétique est localisé sur les thylacoïdes et que l'ETS respiratoire possède au moins un site d'opération sur le plasmalemme. Au contraire d'autres systèmes d'électrons, les cyanobactéries utilisent le NADPH comme donneur préférentiel d'électrons plutôt que le NADH. De même que d'autres types d'organismes, elles possèdent une cytochrome oxydase de type *aa₃*, et de même que les plantes supérieures elles possèdent une oxydase alternative du cytochrome de type *o*, qui est inhibée par le m-CLAM (acide m-chlorobenzhydroxamique).

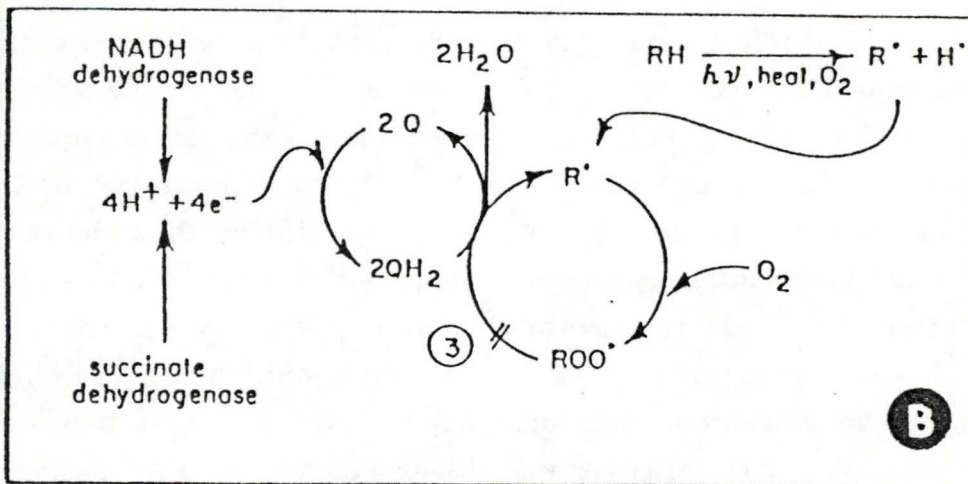
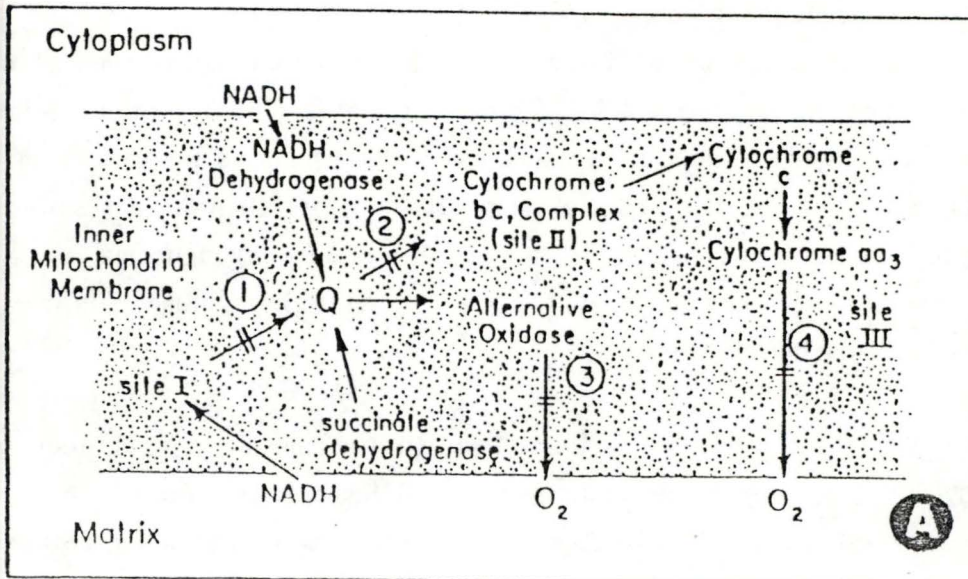


Fig.1.9a - Le système de transport d'électrons respiratoires dans les mitochondries de plantes et la position de l'oxydase alternative. Les nombres entourés indiquent les sites d'inhibition : 1, roténone ou périodicine A; 2, antimycine A; 3, acides hydroxamique (entre autres, SHAM et *m*-CLAM), propylgallate, disulfiram; 4, cyanure. [redessiné de MOORE et RICH, 1980 in PACKARD, 1985].

Fig.1.9b - Résumé de l'hypothèse que la respiration résistante au cyanure réalise une oxydation d'acides gras non-enzymatiques. Les acides gras libres, non saturés (RH) peuvent être convertis en radicaux libres (R·) sous conditions de forte luminosité, chaleur ou fortes pressions partielles en oxygène. L'oxydation en radicaux peroxy (ROO·) est spontanée. Ces réactions avec l'ubiquinol (QH₂) devrait produire de l'eau et régénérer l'ubiquinone (Q) et le radical libre (R·). Ainsi, seules des traces d'acides gras membranaires sont nécessaires. [redessiné de RUSTIN et al., 1983 in PACKARD, 1985].

III.2.2. Les eucaryotes

1. Les protozoaires

Un système d'oxydase branché a été mis en évidence chez *Tetrahymena pyriformis*. YOUNG [1983, in PACKARD, 1985] a montré qu'il consistait en un système sensible au cyanure (60 - 75%), un système sensible au SHAM (acide salicylhydroxamique), un système résistant au cyanure (14 - 9%) et un système résistant aux deux inhibiteurs (26 - 16%). Il a également montré que la variation de ces systèmes était causée par des différences dans les stades de croissance et dans les conditions de culture.

2. Les algues eucaryotes

a) Introduction. Il y a quatre types de respiration chez les plantes. La plus importante est la respiration "sombre". La respiration résistante au cyanure et la respiration des chloroplastes sont uniques et sont l'objet de débats d'actualité. Nous ne reparlerons pas de la photorespiration dont il a déjà été question (voir II.6.3.).

b) Respiration résistante au cyanure. Les mitochondries des plantes sont fréquemment résistantes au cyanure et à d'autres inhibiteurs de la cytochrome oxydase (fig.1.9a). Cette résistance provient du fait qu'elles possèdent une oxydase terminale alternative qui n'est pas inhibée par les inhibiteurs classiques de la cytochrome oxydase et qui n'est pas couplée à la phosphorylation oxydative. L'énergie libre de cette oxydation n'est apparemment pas utilisée. Cependant, une telle réaction non couplée peut faciliter la génération de chaleur, la production de squelettes carbonés sans production d'ATP additionnel ou peut oxyder des radicaux peroxy d'acides gras potentiellement toxiques qui sont présents en trace dans les membranes mitochondriales (fig.1.9b).

c) Respiration des chloroplastes. Les plantes possèdent une autre forme de respiration, la respiration des chloroplastes, qui n'a été découverte que récemment. Les membranes des chloroplastes présentent un système de transport d'électrons non phosphorylant qui consomme de l'O₂. La ferrédoxine et le NADPH servent comme transporteurs d'électrons et le glycéraldéhyde 3-phosphate sert de donneur d'électrons. On pense que ce système trouve son origine dans l'ETS respiratoire des ancêtres des chloroplastes, organismes vivants alors librement. Les cyanobactéries que

l'on considère comme les descendants de ces formes libres possèdent un ETS respiratoire unique qui peut être localisé avec l'ETS photosynthétique sur la membrane thylacoïdienne et peut partager des transporteurs d'électrons communs (voir III.2.1.3.).

d) La respiration "sombre". L'ETS des plantes associé avec la respiration "sombre" est localisé sur la membrane mitochondriale interne de même que chez les animaux supérieurs, et le système est également composé de NADH et de succinate déshydrogénase, d'ubiquinone et de cytochrome *b*, *c*, *c*₁, *a* et *a*₁. Cependant, les mitochondries des plantes ont une voie additionnelle pour oxyder le NADH, NADPH, malate ainsi que d'autres substrats exogènes, de même que la respiration alternative résistante au cyanure (fig.1.9a). Ces voies procurent aux plantes une variété de réponses face aux changements de conditions métaboliques et environnementales. Les membranes mitochondriales internes comme externes contiennent des NADH-déshydrogénases, mais seules les déshydrogénases sur la membrane interne sont importantes pour la consommation respiratoire d'O₂. Une de ces NADH-déshydrogénase est localisée sur le côté externe de la membrane interne et transfère les équivalents réduits depuis le NADH exogène vers l'ubiquinone (fig.1.9a). Une autre est localisée sur le côté interne de la membrane interne et transfère ainsi les équivalents réduits sur l'ubiquinone. Le premier enzyme passe outre le site I de phosphorylation et est insensible à la roténone. Il atteint quatre molécules d'ADP par mole d'O₂ consommée (ADP/O, P/O, ou P/2e⁻=2). Par contre la NADH-déshydrogénase du côté interne a un rapport ADP/O de 3 et est sensible à la roténone. Cette capacité des mitochondries des plantes d'oxyder le NADH exogène contraste avec les mitochondries des mammifères qui ne peuvent oxyder le NADH exogène que lorsque leurs membranes sont endommagées. Une autre caractéristique unique des mitochondries des plantes est leur capacité à oxyder le NADPH exogène sans transhydrogénation vers le NADH. Ceci est réalisé via une voie roténone-résistante qui court-circuite le site I en transférant les électrons à l'ubiquinone. Cette caractéristique peut être reliée à la préférence des cyanobactéries pour le NADPH (voir III.2.1.).

e) ETS mitochondrial. Il est supposé que l'ETS mitochondrial chez le phytoplancton est similaire à l'ETS des plantes supérieures et peut ainsi être décrit par la figure 1.9a, mais des recherches pour confirmer cette présupposition ont seulement commencé. Les recherches d'avant

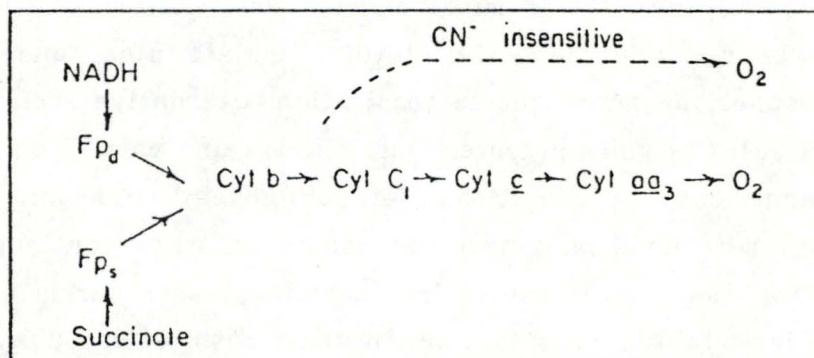


Fig.1.10- Séquence de transfert d'électrons dans les mitochondries de l'algue *Polytomella caeca*. La voie alternative de transfert d'électrons entre les déshydrogénases et l'oxygène est représentée par la ligne pointillée. [redessiné de LOYD et CHANCE, 1968; LOYD, 1974b, in PACKARD, 1985].

1973 ont été revues par LLOYD [1974a,b, in PACKARD, 1985]. Il a trouvé, dans les mitochondries d'algues colorées *Prototheca zopfii*, les cytochromes *b*, *c*, *a* et *a₃*, ainsi que l'ubiquinone-7. Il a également déterminé que l'oxydase alternative résistante au cyanure se trouve en faible quantité ou est absente et que le nombre de moles d'ATP formées relativement aux atomes-grammes d'O₂ consommés (le rapport P/O) et le rapport de la respiration mitochondriale en présence d'une grande quantité d'accepteurs de phosphates (entre autres ADP) sur le taux de respiration en absence d'accepteur de phosphates (le rapport du contrôle respiratoire RC) sont élevés. Avec du 2-oxoglutarate et d'autres intermédiaires du cycle de Calvin comme substrat, les rapports RC tournent autour de 1,2 à 5,5. Les rapports P/O pour le même groupe d'intermédiaires du cycle de Calvin tournent autour de 1,6 à 3,3. Ces rapports élevés suggèrent que la phosphorylation chez *Prototheca zopfii* est similaire à celle rencontrée chez les animaux supérieurs.

Dans les mitochondries du flagellé *Polytomella caeca*, l'ETS respiratoire est caractérisé par les cytochromes *b*, *c₁*, *c*, *a* et *a₃* ainsi que par des flavoprotéines, de la succinate déshydrogénase et de la NADH oxydase (fig.1.10). L'étape limitante pour la respiration se produit entre les flavoprotéines et le cytochrome *b*. Les mitochondries de ces algues montrent un contrôle respiratoire dans la gamme de 3,1 à 3,5 lorsque l' α -oxyglutarate est métabolisé. Le rapport P/O dans les mêmes conditions avoisine 3,1 à 3,3.

Les recherches depuis 1973 ont été menées sur *Chlorella*, *Chlamydomonas* et *Phaeodactylum*. Dans les mitochondries de *Chlorella protothecoides*, l'ETS consiste en cytochromes *b*, *c*, *a*, *a₃*, une voie alternative à l'oxygène, une succinate déshydrogénase et une NADH-oxydoréductase. Dans les préparations mitochondriales de GRANT et HOMMERSAND [1974 a,b, in PACKARD, 1985], les rapports de contrôle respiratoire étaient bas, mais leurs observations doivent être considérées comme préliminaires et répétées car les mitochondries qu'ils ont utilisées ont pu être endommagées pendant la préparation. Cependant, ils ont observé que lorsque du m-CLAM, un inhibiteur de la voie alternative, était utilisé, les rapports RC étaient seulement de l'ordre de 1,1 à 1,3, inférieur aux rapports RC des mammifères et inférieur à ce que LLOYD [1974 a,b, in PACKARD, 1985] rapportait pour *Prototheca zopfii*.

Plus tard GRANT [1978, in PACKARD, 1985] rapporte des rapports de 2,2 avec du succinate comme substrat, mais cela représente encore un contrôle respiratoire ineffectif comparé au système des mammifères.

Des études avec *Chlamydomonas reinhardi*, phytoflagellée d'eau douce, ont révélé un niveau relativement bas de cytochrome oxydase qui suggère la présence d'une oxydase alternative. Les composés de l'ETS n'ont pas été décrits.

Phaeodactylum tricornutum est la seule espèce de phytoplancton marin pour laquelle la structure biochimique de l'ETS respiratoire ait été étudiée. Cette algue est connue comme possédant un cytochrome de type *c* (c_{550}) qui, lorsqu'il est réduit, possède des bandes d'absorption α , β et γ respectivement à 550, 522 et 417 nm.

Sa cytochrome oxydase forme un complexe de monoxyde de carbone dissocié à la lumière, comme le fait la cytochrome oxydase d'autres organismes, et elle s'associe avec le cyanure. En plus, il possède des cytochromes de type *b* aussi bien sous forme liée que soluble, de l'ubiquinone-9 et des flavines acides solubles, du FAD et du FMN. Le cytochrome *b* soluble a des maxima d'absorption α , β et γ à 560, 529 et 427 nm dans son état réduit. Le fait que les trois bandes sont à 2-3 nm de la fin du spectre dans le bleu suggère leur fonction respiratoire et identifie ce cytochrome comme différent des trois bandes des cytochromes photosynthétiques, cytochrome *f* et cytochrome b_6 . Les réactions du cytochrome c_{550} avec du cyanure et du monoxyde de carbone apportent une preuve supplémentaire qu'il remplit une fonction respiratoire car ni le cytochrome *f* ni le cytochrome b_6 ne se combinent avec ces inhibiteurs.

Les recherches concernant les cytochromes du phytoplancton et les autres composés de transfert d'électrons indiquent donc que l'organisation de l'ETS respiratoire du phytoplancton n'est pas fort différent de l'ETS des mammifères ou bactériens et qu'en première approximation les suppositions basées sur ces systèmes mieux connus peuvent être appliquées également au phytoplancton.

III.3. MESURE DE L'ACTIVITE ETS

III.3.1. Principe et stratégie générale

Puisque le système de transport d'électrons de la respiration peut être considéré comme régulant la consommation d'oxygène respiratoire à la fois chez les eucaryotes et les procaryotes, on pouvait imaginer un dosage pour mesurer l'activité ETS combinée de ces deux groupes. On a montré que les donneurs naturels d'électrons de l'ETS respiratoire, NADH et succinate, et le donneur naturel d'électrons de l'ETS microsomal, NADPH, stimulent la réduction de l'INT, 2-(p-iodophényl)-3-(p-nitrophenyl)-5-phenyl chlorure de tétrazolium. La réduction de ce composé donne un composé rouge, le formazan, que l'on peut doser spectrophotométriquement (fig.1.11). Grâce à l'utilisation d'antibiotiques, KENNER et AHMED [1975 a, in PACKARD, 1985] ont déterminé que le site de réaction du tétrazolium (INT) se situe au niveau de la SDH et de la NADH oxydase. Puisque la partie limitante de l'ETS est localisée au niveau de l'oxydation du complexe ubiquinone-cytochrome *b* [CHANCE, 1955, CHANCE *et al.*, 1955, GREEN, 1964, in PACKARD, 1971], l'INT peut être utilisé comme indicateur de la capacité maximale de transport d'électrons ou V_{max} . Néanmoins, les découvertes de KENNER et AHMED [1975 a, in PACKARD, 1985] suggèrent également que le phytoplancton (marin) diffère des autres systèmes biologiques dans lesquels la réduction de l'INT se produit entre la déshydrogénase et le cytochrome *c*.

On emploie du NADH pour saturer l'ETS mitochondrial, du NADPH pour saturer certains systèmes de transport d'électrons mitochondriaux et l'ETS microsomal, ainsi que l'accepteur artificiel d'électrons, le sel de tétrazolium (INT) pour enregistrer le taux de transmission d'électrons. De cette manière, le dosage, appelé dosage ETS, mesure l'activité générale (le taux maximal de réaction) de la succinate déshydrogénase (EC 1.3.99.1), de la NADH déshydrogénase (EC 1.6.99.3), de la NADPH déshydrogénase (EC 1.6.99.6) et de la NADPH cytochrome reductase (EC 1.6.2.4). Le rôle des enzymes consommateurs d'oxygène non associés avec ces systèmes est considéré minimal et n'est pas mesuré. Les quantités optimales des substrats du dosage enzymatique sont présentées à la figure 1.12 [PACKARD, 1971]. Notons que de l'ADP n'est pas nécessaire car le système de phosphorylation oxydative n'est pas couplé à l'ETS par l'INT [CLARK *et al.*, 1965, PACKARD, 1969, in PACKARD, 1971].

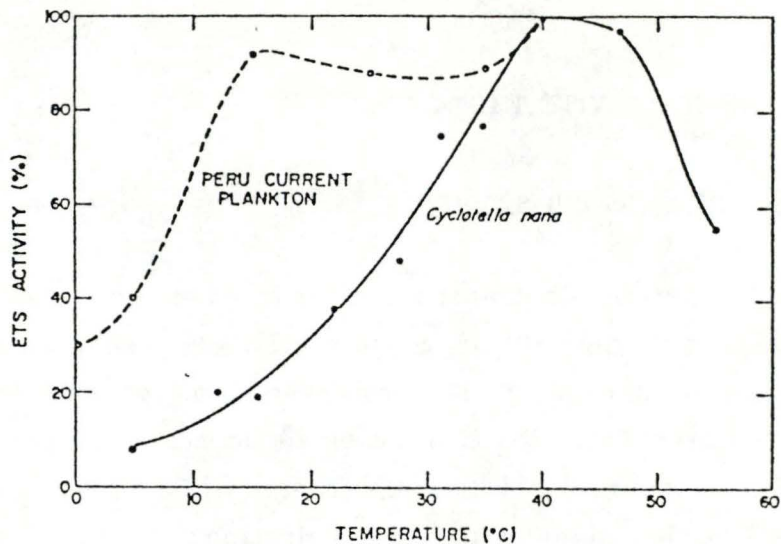


Fig.1.13 - Dépendance de l'activité ETS vis-à-vis de la température chez *Cyclotella nana* et le plancton du courant péruvien. [PACKARD, 1971].

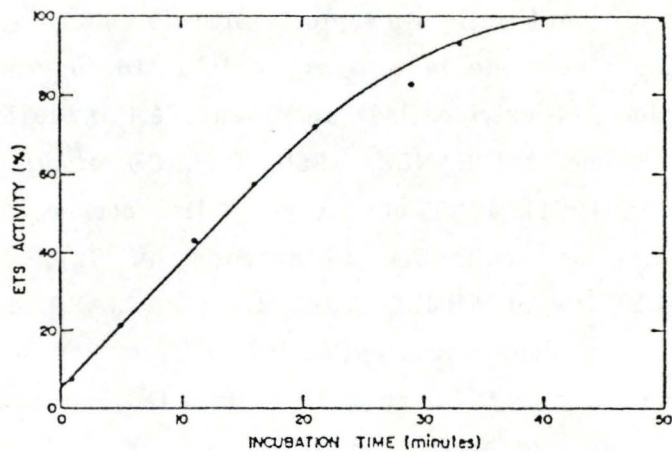


Fig.1.14 - Dépendance de l'activité ETS vis-à-vis du temps d'incubation pour des extraits de *Cyclotella nana*. [PACKARD, 1971].

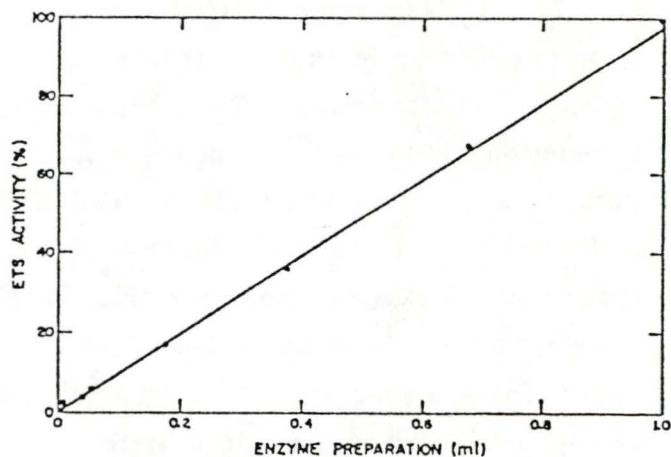


Fig.1.15 - Dépendance de l'activité ETS vis-à-vis de la concentration en enzymes pour des extraits de *Cyclotella nana*. [PACKARD, 1971].

Le dosage ETS nous donne des résultats sous forme de taux respiratoire. Cette caractéristique le différencie des autres mesures indirectes de respiration telles le poids ou la taille. Cependant, comme toute mesure indirecte, il demande une calibration directe avec la respiration mesurée par la consommation d'oxygène (établissement du rapport R/ETS; voir III.4).

Puisqu'il s'agit d'une réaction enzymatique, l'optimum de température n'est pas constant. Celui-ci varie à la fois avec les sources biologiques de l'enzyme, et avec les caractéristiques du dosage enzymatique telles la force ionique, le pH, le temps d'incubation [PACKARD, 1971]. Nous présentons un exemple de variation d'activité du dosage ETS en fonction de la température à la figure 1.13. La relative complexité de la dépendance à la température de l'activité ETS est probablement le reflet de différentes caractéristiques des isoenzymes impliqués [PACKARD, 1971].

Des tests ont été réalisés quant à la dépendance du temps vis-à-vis de la réduction de l'INT [PACKARD, 1971]. Le taux de réduction est constant jusqu'à 20 minutes, ensuite il décroît (fig.1.14). La réduction de l'INT pendant une période de 20 minutes varie directement avec la quantité de préparation d'enzyme (fig.1.15) [PACKARD, 1971].

III.3.2. Développement de la méthode

[Essentiellement d'après CHRISTENSEN et PACKARD, 1979]

Au cours des années, de nombreuses modifications ont été apportées au dosage original de l'ETS. Celles-ci ont contribué à augmenter la sensibilité analytique, mais ont également obligé à la mesure de nouveaux rapports R/ETS (voir III.4.).

Les améliorations ont porté sur l'incorporation d'un tampon d'homogénéisation pour préserver l'activité enzymatique [PACKARD, 1971], sur une augmentation du pH des tampons et sur l'introduction d'une solution de terminaison de la réaction plus stable [DEVOL, 1975, in CHRISTENSEN et PACKARD, 1979]. Le changement majeur fut sans doute l'introduction du détergent TRITON X-100 pour solubiliser le formazan. L'incorporation du TRITON X-100 ne modifie pas de manière importante

la cinétique des réactifs. Par contre, elle augmente de 4 à 10 fois la sensibilité du dosage ETS par rapport aux méthodes d'extraction par solvant. OWENS et KING [1975, in CHRISTENSEN et PACKARD, 1979] suggèrent que le détergent active les enzymes avant l'ubiquinone en changeant la disponibilité des sites accepteurs. Il augmente également la perméabilité des membranes et retarde ou prévient la formation de vésicules à partir de fragments de membranes.

Dans l'analyse de l'activité ETS de sédiments, CHRISTENSEN et PACKARD [1977, in CHRISTENSEN et PACKARD, 1979] ont utilisé la sonication en raison de l'impossibilité d'une homogénéisation mécanique. Il apparaît que cette méthode incluant une homogénéisation par sonication soit moins précise (moyenne $\pm 18\%$ contre $\pm 12\%$ avec une homogénéisation mécanique). La sonication en présence de TRITON X-100 (méthode de CHRISTENSEN et PACKARD, 1977, in CHRISTENSEN et PACKARD, 1979) augmente l'activité ETS, d'un facteur moyen de 1,46, sans doute en augmentant la rupture des cellules et en facilitant l'interaction du détergent avec les membranes; sans détergent, elle diminue l'activité, probablement en augmentant la formation de vésicules à partir de fragments de membranes [KAGAWA, 1972, in CHRISTENSEN et PACKARD, 1979].

III.4. RAPPORT R/ETS

Le rapport de la respiration sur l'activité ETS, dans les mêmes unités, reflète la fraction de la capacité respiratoire que l'organisme utilise de manière courante. Un grand soin doit être apporté afin de maintenir des conditions optimales de réaction tout au long du dosage ETS, et ce dans le but d'assurer une estimation précise de V_{\max} . Reste ensuite à calculer le taux respiratoire. Il y a deux manières de résoudre le problème : la première est d'utiliser un facteur de conversion déterminé empiriquement; la seconde est de calculer la respiration de manière cinétique à partir des valeurs de V_{\max} (activité ETS) et des concentrations des substances de contrôle (voir III.1.2.). Comme on ne possède pas de données précises concernant le contrôle respiratoire du phytoplancton, cette approche ne peut être utilisée. Cela laisse la première solution, l'utilisation d'un facteur de conversion déterminé empiriquement.

Tableau 1.2

Rapports de l'activité respiratoire sur l'activité ETS pour du phytoplancton et des bactéries, calculé pour six méthodes ETS. [CHRISTENSEN et PACKARD, 1979].

	P69	P71	D	KA	OK	CP
Phytoplankton						
Avg of 9 species*	1.07	0.60	0.50	0.17†	0.16	0.11
<i>Dunaliella tertiolecta</i> ‡	1.14	0.62†	0.52	0.18	0.17	0.12
Natural population dominated by <i>Chaetoceros socialis</i> ‡	1.01	0.55†	0.46	0.16	0.15	0.11
Bacteria						
<i>Vibrio anguillarum</i> § (uncorrected for filtration efficiency)	13.7	10.9	8.8	2.2	2.1†	1.4
(corrected for filtration efficiency of 39%)	5.3	4.2	3.4	0.88	0.82†	0.54

* Kenner and Ahmed 1975b.

† Values reported in the original methods paper.

‡ Packard et al. 1974.

§ Christensen and Packard 1976.

Abréviations : P69, PACKARD 1969; P71, PACKARD 1971; D, DEVOL 1975; KA, KENNER et AHMED 1975a; OK, OWENS et KING 1975; CP, CHRISTENSEN et PACKARD 1977. Les trois premières méthodes utilisent une extraction par solvant, les trois dernières une solubilisation par détergent. La méthode de CHRISTENSEN et PACKARD (1977) est la seule à utiliser une homogénéisation par sonication.

Chez le phytoplancton, ce rapport est dépendant de l'état physiologique. Lorsque les cultures croissent au-delà de leur phase exponentielle et avancent vers leur phase stationnaire et sénescence, le rapport R/ETS diminue fortement. Ainsi, dans de telles conditions KENNER et AHMED [1975b, in CHRISTENSEN et PACKARD, 1979] ont observé un rapport R/ETS passant de 0,15 à 0,06. Ce changement est dû à la décroissance du taux respiratoire et non à l'activité ETS; cette dernière reste constante comme on peut s'y attendre pour un système d'enzymes constitutives. Ce changement dans le rapport coïncide avec une diminution de nutriments, conditions qui surviendraient à la fin d'un "bloom" phytoplanctonique.

Comme nous l'avons signalé plus haut, les différentes méthodes d'homogénéisation conduisent à des valeurs d'activité différentes et donc à des rapports R/ETS différents. CHRISTENSEN et PACKARD (1979) présentent les valeurs rapportées par différents auteurs et pour les deux méthodes (tableau 1.2). Ils proposent aussi un coefficient de conversion de $3.00 \pm 14\%$ reliant le dosage incorporant le TRITON X-100 de KENNER et AHMED [1975a, in CHRISTENSEN et PACKARD, 1979] au dosage de DEVOL [1975, in CHRISTENSEN et PACKARD, 1979]. Ils ont choisi de comparer ces deux méthodes parce qu'elles sont le plus proches au point de vue du pH. PACKARD (1985) donne également un résumé de diverses valeurs de la littérature du rapport R/ETS (tableau 1.3).

Conclusion

La base conceptuelle pour le développement de l'approche ETS pour la mesure de la respiration est basée sur deux hypothèses :

1/ que le système de transport d'électrons respiratoires dans la mitochondrie des eucaryotes et la membrane cellulaire des procaryotes, et dans l'ETS microsomal de ces deux types d'organismes sont les principales origines chimiques de la consommation d'oxygène respiratoire;

2/ que la relation entre la respiration et l'activité ETS serait suffisamment constante d'un organisme à l'autre pour qu'un facteur de conversion simple puisse être utilisé pour calculer la consommation d'oxygène respiratoire.

Tableau 1.3

Etudes de l'ETS et de la respiration sur des Cultures Unispécifiques de Phytoplancton et de Bactéries. [PACKARD, 1985].

Organism	R/ETS SD	N	Comment	Reference
Bacteria				
<i>Vibrio adaptatus</i>	0.66 ± 0.08	6	Peptone grown	3
<i>Vibrio anguillarum</i>	1.00 ± 0.07	6	Peptone grown	3
<i>Vibrio anguillarum</i>	1.34 ± 0.55	7	Glucose grown	3
<i>Vibrio</i> sp.	1.28 ± 0.24	6	Peptone grown	3
<i>Serratia marinorubra</i>	1.87 ± 0.49	6	Peptone grown	3
<i>Pseudomonas perfectomarinus</i>	1.08 ± 0.38	9	Peptone grown	3
<i>Pseudomonas perfectomarinus</i>	0.87 ± 0.17	9	Glucose grown	3
<i>Pseudomonas perfectomarinus</i>	<u>0.78 ± 0.11</u>	<u>11</u>	Tryptone grown	4
	1.10 ± 0.24	60		
Eukaryotic microalgae				
Bacillariophyceae				
<i>Coccinodiscus angustii</i>	0.137 ± 0.006	17		1
<i>Cyclotella</i> sp.	0.106 ± 0.006	10		1
<i>Ditylum brightwellii</i>	0.319 ± 0.010	13		1
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	0.161 ± 0.007	10		1
<i>Skeletonema costatum</i>	0.151 ± 0.008	11		1
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	<u>0.135 ± 0.011</u>	<u>8</u>		1
	0.172 ± 0.008	69		
Chlorophyceae				
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	0.18 ± 0.07	10		2
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	<u>0.169 ± 0.016</u>	<u>12</u>		1
	0.174 ± 0.041	22		
Coccolithophorids				
<i>Cricosphaera carteri</i>	0.159 ± 0.007	11		1
Haptophyceae				
<i>Isochrysis</i> sp.	<u>0.177 ± 0.018</u>	<u>14</u>		1
	0.172 ± 0.015	116		
Protozoa				
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	0.25 ± 0.02	31		5

Symboles : SD = déviation standard

N = nombres d'observations

Références : (1) KENNER et AHMED (1975a); (2) PACKARD et al. (1974); (3) CHRISTENSEN et al. (1980); (4) PACKARD et al. (1983); (5) FINLAY et al. (1983) et JONES et SIMON (1979); tous les rapports R/ETS bactériens sauf un sont calculés à partir de CHRISTENSEN (1980), et en utilisant le facteur 1/4,41 comme décrit par CHRISTENSEN et PACKARD (1979). Les valeurs qui en résultent sont équivalentes aux rapports déterminés par la méthode de KENNER et AHMED (1975 a). Le dernier rapport de *P. perfectomarinus* est recalculé à partir des données de la fig.4 de PACKARD et al. (1983 b)

La première hypothèse peut être largement acceptée pour les organismes terrestres et d'eau douce. Cependant, la deuxième hypothèse n'est pas confirmée par les données actuelles, parce que la relation entre le taux de respiration et l'activité ETS (R/ETS) n'est pas constante. Le phytoplancton a une valeur moyenne de 0,172, les bactéries de 1,1, les protozoaires de 0,25 et le zooplancton de crustacés de 0,49.

III.5. RESULTATS DE LA LITTERATURE

Des études sur la respiration de communautés à partir de dosages ETS ont été réalisées dans de nombreux lacs ainsi qu'en milieu océanique [entre autre DEVOL et PACKARD, 1978; RAI, 1984; PACKARD, 1985]. Dans les lacs, les maxima d'activité ETS sont relevés durant le "bloom" de printemps, période où l'on enregistre les maxima d'incorporation de ^{14}C . RAI (1984) note, dans le Schöhsee, une dépendance de l'activité enzymatique respiratoire vis-à-vis de la taille des cellules. Ainsi, la fraction inférieure à 10 μm contribue pour 29 à 78% (moyenne 56%) du total de la respiration du phytoplancton. Les fractions comprises entre 250 et 35 μm et inférieures à 35 μm contribuent respectivement pour 3 à 60% (moyenne 27%) et 45 à 96% (moyenne 73%) de la respiration totale de communautés. La fraction inférieure à 10 μm est donc responsable de la plus grande respiration. RAI (1982) a en outre montré que cette même fraction représente la plus grande part des taux d'assimilation de carbone ainsi que la biomasse la plus importante.

HARRIS (1986) note en outre une relation entre état trophique, composition et distribution de taille des cellules, ainsi qu'avec bon nombre de propriétés physiologiques. Ainsi, les grandes cellules demanderaient des apports importants de nutriments, mais ceux-ci pourraient être espacés; ces cellules possèdent de grandes capacités de stockage. Les petites cellules pour leur part demandent un environnement constant, avec des apports de nutriments faibles mais continuellement disponibles. LAWS [1975, in HARRIS, 1986] indique une relation dépendante de la taille entre P_{max} et R, selon laquelle les grandes cellules réalisent proportionnellement de plus petites pertes respiratoires. Un effet clair de la taille semble également marquée quant au taux de croissance, avec les petites Cyanophycées et les ciliées pouvant croître à un taux d'environ $1,5 \text{ j}^{-1}$, tandis que le "net-plancton",

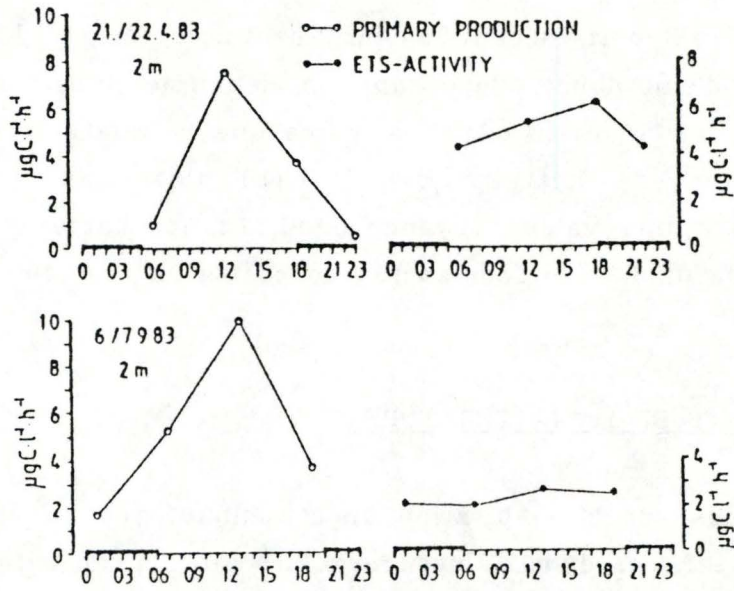


Fig.1.16a - Cycles journaliers de l'activité ETS et de la production primaire à 2 m de profondeur dans le lac Schossee. Les barres noires indiquent les périodes d'obscurité. [RAI, 1984].

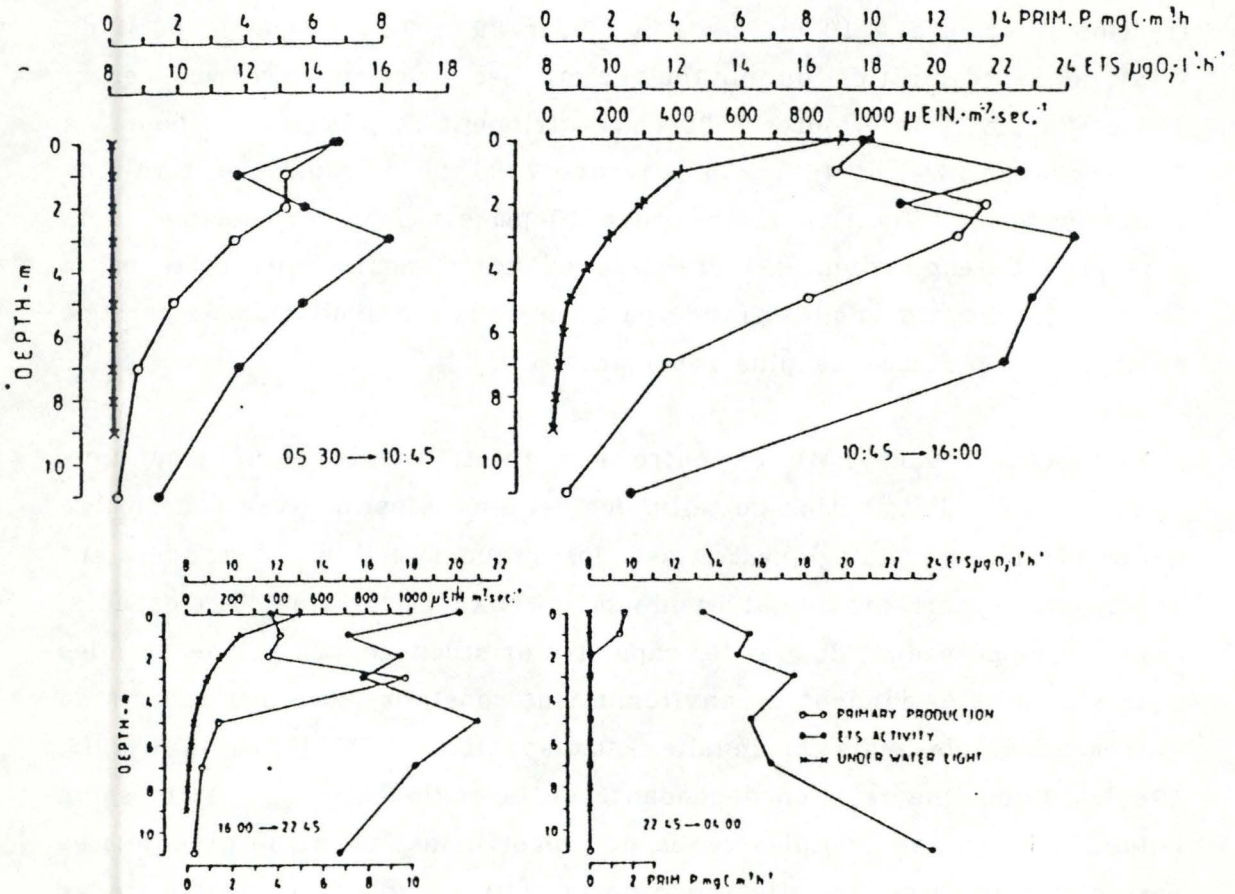


Fig.1.16b - Variations journalières verticales de l'activité ETS et de la production primaire dans le lac Schossee. [RAI, 1984].

plus grand ($> 65 \mu\text{m}$ de diamètre), croît à un taux compris entre 0,1 et 0,8 j^{-1} . Ainsi, puisqu'un grand nombre de caractéristiques physiologiques sont corrélées à la taille, HARRIS (1986) pense que la grande diversification de ces propriétés physiologiques est la raison majeure d'une telle gamme de tailles cellulaires généralement observées in situ.

Pour en revenir à l'activité ETS, la distribution verticale varie fort d'un cas à un autre. RAI (1984) rapporte des variations verticales et journalières significatives à la fois de la productivité et de la respiration (fig.1.16). Ces résultats sont contraires à ceux de DEVOL et PACKARD (1978) pour qui il n'y a pas de variations journalières significatives de l'activité ETS dans le lac Washington. Toutefois, compte tenu de la physiologie des algues, cette supposition ne semble pas réaliste.

En milieu océanique, la distribution verticale des courants d'Afrique du nord ouest est uniforme, alors que les courants du Pérou présentent un accroissement de l'activité ETS dans les quelques premiers mètres et ensuite une diminution progressive avec la profondeur (fig.1.17) [PACKARD, 1985]. PACKARD (1985) fait par ailleurs remarquer la différence d'association de l'activité ETS avec la biomasse phytoplanctonique dans les deux régions. Dans le courant ascendant péruvien la corrélation entre l'activité ETS et la chlorophylle est élevée ($r = 0,88$) mais dans le système d'upwelling du nord ouest africain il est plus bas ($r = 0,55$), impliquant qu'une plus grande part de la respiration des communautés du plancton est assurée par la fraction algale dans les courants ascendants péruviens.

Les valeurs moyennes d'activité ETS pour ces deux régions sont de 180 $\text{ml O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$ dans la zone euphotique des systèmes d'upwelling d'Afrique du nord ouest et de 150 $\text{ml O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$ pour la zone euphotique d'upwelling péruvien; ces valeurs représentent 14% de la P_b . Le tableau 1.4 présente un résumé des mesures publiées de la respiration calculée à partir des valeurs d'activité ETS en eau océanique. La gamme des taux de respiration s'étend de 0,1 à 5,5 $\text{ml O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$ ou, sur une base par m^2 , de 8,3 à 116 $\text{ml O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.

Concernant la distribution verticale du rapport P/R, RAI (1984) rapporte des valeurs comprises entre 0,03 et 4,31, cette dernière correspondant aux taux photosynthétiques les plus élevés, tandis que les

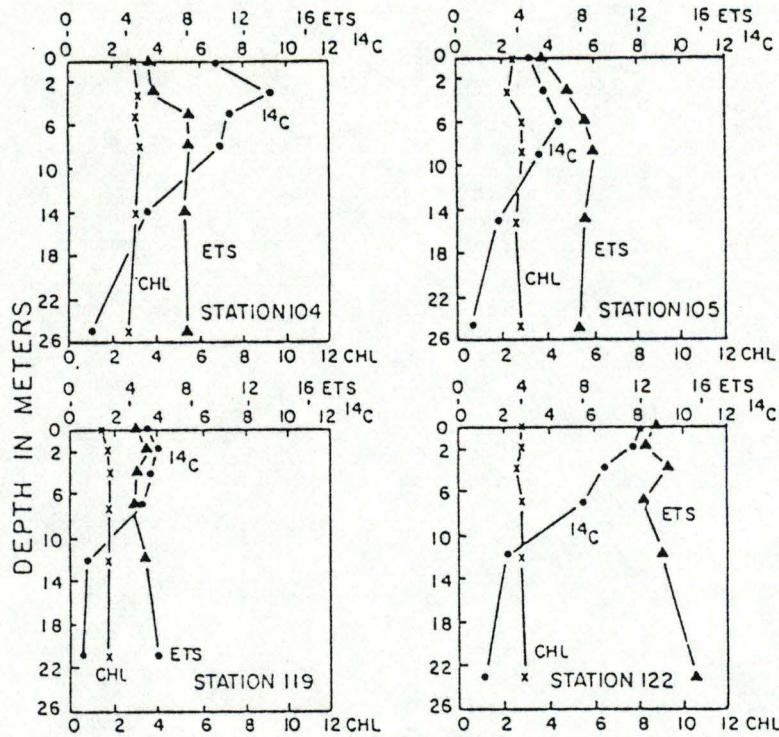


Fig.1.17a - Profils de l'activité ETS, de l'incorporation de carbone (^{14}C) et de la chlorophylle dans le système d'upwelling du NO africain. Les échantillons sont récoltés avec des bouteilles d'eau avec préfiltration. Ces unités sont des $\mu\text{l O}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ pour l'activité ETS; des $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ pour la chlorophylle; des $\mu\text{g C} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ pour l'incorporation de C. [redessiné de PACKARD, (1979) in PACKARD, 1985]

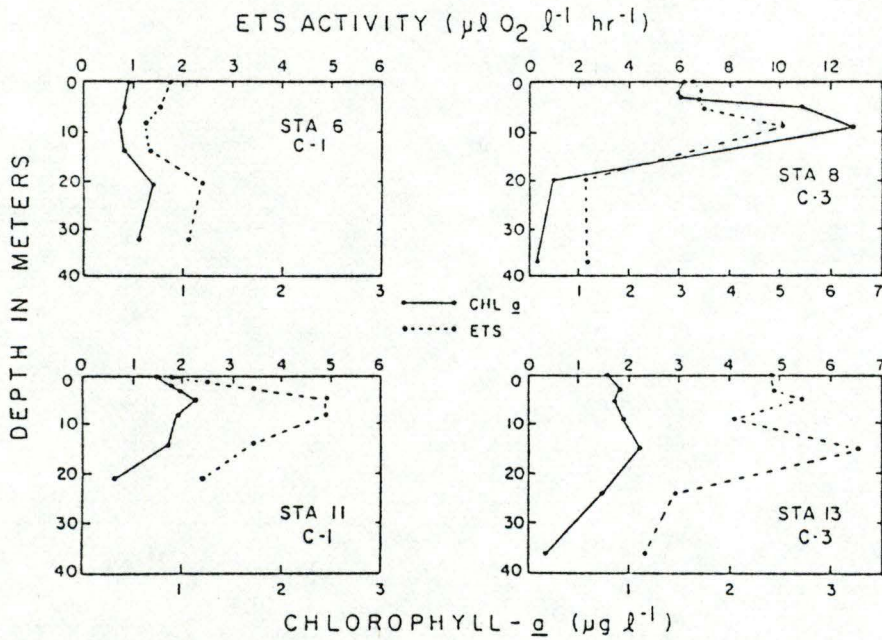


Fig.1.17b - Profils verticaux de l'activité ETS et de la chlorophylle a dans la zone euphotique du système d'upwelling péruvien. Les mesures ont été réalisées pendant la phase AM-77 de l'expédition Pérou CUEA. [redessiné de SETCHELL et PACKARD 1989, in PACKARD, 1985]

Tableau 1.4

Taux respiratoires et activité ETS dans les zones euphotiques d'upwelling et d'autres régions océaniques. [PACKARD, 1985].

Region	ETS Activity (meq O ₂ h ⁻¹)		Respiration (ml O ₂ h ⁻¹)		Method	Reference
	(m ⁻²)	(m ⁻³)	(m ⁻²)	(m ⁻³)		
Upwelling area						
NW African (1971)	32	1.52	26.9	1.3	P71	1
NW African (1974)	32	1.54	27.0	1.3	KA	2
Baja Californian (1972)	199	6.63	166.0	5.5	P71	2
Baja Californian (1973)	26	1.25	22.1	1.1	KA	2
Peruvian Current (1969)	99	4.93	82.8	4.1	P69	3
Peruvian Current (1977)	27	1.16	22.6	1.0	KA	4,5
Other systems						
Costa Rica Dome (1973)	12	0.20	10.1	0.2	P71	6,2
NE tropical Pacific	18	0.25	15.3	0.2	P71	7
Mediterranean Sea	10	0.11	8.3	0.1	P71	8
Saanich Inlet (Pacific)	14	0.93	11.7	0.8	P71	2
Gulf of Maine	83	3.34	125.0	5.0	KA	9
NW Atlantic	85	1.36	111.2	1.8	KA	9

Sauf pour les données du "Gulf of Main" et du NO de l'Atlantique, la respiration est calculée à partir des données ETS rapportées par PACKARD (1979) et d'un rapport R/ETS de 0,15. L'activité ETS exprimée en meq.h⁻¹ est convertie en ml O₂.h⁻¹ par le facteur 22.4/4. Les taux respiratoires du "Gulf of Main" et du NO de l'Atlantique sont calculés à partir des mesures ETS intégrées de PACKARD et WILLIAMS (1981) et recalculées par régression. Les valeurs ETS ont été modifiées par rapport aux valeurs originales pour être comparables à la version du dosage ETS de KENNER et AHMED (1975a). Les méthodes sont abrégées comme au tableau 1.2. Les références sont (1) PACKARD et al. (1974); (2) PACKARD (1979); (3) PACKARD (1969); (4) SETCHELL et PACKARD (1978); (5) SETCHELL et PACKARD (1979); (6) KUNTZ et al. (1975); (7) KING et al. (1978); (8) SLAWYK et al. (1976); (9) PACKARD et WILLIAMS (1981).

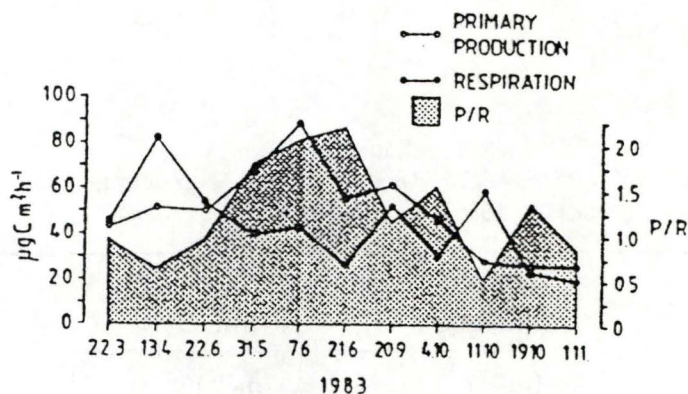


Fig.1.18 - Respiration calculée à partir de l'activité ETS (R), production de ^{14}C (P) et rapport P/R dans le Schöhsee. Les valeurs de respiration et de production ont été intégrées sur 11 mètres de profondeur. Les rapports P/R ont été calculés à partir de ces valeurs intégrées de P et de R. [RAI, 1984]

Tableau 1.5
Valeurs représentatives du rapport P/R. [DEVOL et PACKARD, 1978].

P:R Range	Type of Plankton	Reference
0.88-4.5*	Natural assemblages of marine phytoplankton	Eppley and Sharp (1975)
0-25 [†]	Natural assemblages of marine phytoplankton	Steemann Nielsen and Hansen (1959)
3-5 [‡]	Natural assemblages of marine phytoplankton	Sceele (1964)
1.6-15.8 [‡]	Laboratory cultures (marine)	Eppley and Sloan (1966)
4-60 [§]	Marine diatoms	McAllister, Shaw and Strickland (1964)
0.9-4.7 [§]	<i>Fragilaria linearis</i>	Bunt (1965)
1.5-18.1 [§]	Marine algae	Humphrey (1975)
<1-5 [§]	Freshwater algae	Brown and Richardson (1968)
1-12 [§]	<i>Dunaliella euchlora</i>	Ryther (1954)
5-37 [§]	Nitrogen starved <i>Monodus subteraneus</i>	Fogg (1959)
0.2-9.5 [§]	Coastal marine plankton bloom	Platt and Subba Rao (1970)
4-12 [§]	Natural <i>Asterionella japonica</i> bloom	Subba Rao (1969)
25 [‡]	Mean of 188 experiments on coastal marine phytoplankton	Platt and Jassby (1976)

*24-h ^{14}C incubation/estimated respiration.

[†] ^{14}C light gradient.

[‡] ^{14}C uptake/dark change in O_2 (calculated from data presented).

[§]Light oxygen production/dark oxygen consumption.

valeurs les plus basses correspondent aux profondeurs les plus basses. Pour le plancton marin du courant du Pérou, POMEROY et JOHANNES [1968, in RAI, 1984] rapportent des valeurs comprises entre 0,7 et 5,3. Il est intéressant de remarquer qu'une activité ETS significative ou un rapport P/R très bas en-dessous de la zone euphotique indique une forte respiration ou, en d'autres termes, une forte décomposition. Ceci suggère que la photosynthèse et la respiration ne sont probablement pas complètement couplés sur toute la colonne d'eau.

RAI (1984) présente également les résultats des mesures de production et respiration, ainsi que le rapport P/R du Schöhsee, intégré sur la colonne d'eau (fig.1.18). L'activité ETS varie entre 20 et 80 $\mu\text{g C respiré.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. En ce qui concerne le rapport P/R, les valeurs élevées apparaissent à la fin du printemps, début de l'été. Ensuite les valeurs diminuent généralement avec le début du mélange d'automne. Les valeurs les plus élevées correspondent au "bloom" printanier, mais apparaissent quand les maxima d'assimilation commencent à décroître. Au niveau de la période de mélange automnal, on note une alternance des valeurs de P/R et d'assimilation de C quant à leurs maxima. La valeur moyenne du rapport P/R intégré sur la colonne d'eau pour le Schöhsee se situe entre 0,5 et 2,2 [RAI, 1984]. La fraction respirée de la production primaire peut être estimée à partir de ce rapport à 45 à 200% du ^{14}C assimilé.

Pour leur part, DEVOL et PACKARD (1978) présentent pour le lac de Washington le rapport P/R sous deux formes : $(P/R)_e$ qui représente le rapport de la P_g de C pendant le jour sur la respiration de nuit, et $(P/R)_m$ calculé à la profondeur d'assimilation maximum. Le rapport $(P/R)_m$ varie entre une valeur élevée en février de 46 et une valeur faible en octobre de 2,2, ce qui correspond respectivement à 2% et 45% du C assimilé consommé par la respiration. Le rapport $(P/R)_e$ quant à lui varie entre 14,4 en avril (7% de consommation par la respiration de nuit) et 0,7 en octobre (42% de consommation par la respiration de nuit). STEEMANN-NIELSEN et HANSEN [1959, in RAI 1984], pour l'Atlantique boréal, présentent également un pourcentage de consommation par la respiration élevé, de l'ordre de 90%. D'autres valeurs de P/R sont présentées au tableau 1.5.

Dans le Schöhsee, RAI (1984) recherche la cause des changements

dans le rapport P/R dans le grand nombre d'algues nanoplanctoniques (< 35 μm), puisque la plus grande part de l'activité ETS est due à cette fraction et plus spécialement aux cellules inférieures à 10 μm . Un changement quant à la densité des fractions de taille des algues peut dès lors occasionner une variation de P/R. Notons d'autre part que la biomasse bactérienne représente généralement une fraction faible et relativement constante de la biomasse, autour de 5% [DEVOL et PACKARD, 1978; RAI, 1984]. Le rapport R/ETS peut également être mis en cause dans les variations de P/R. En effet, comme nous l'avons déjà signalé, celui-ci varie avec l'état physiologique des cellules et peut diminuer de 50% dans les cultures sénescents. Toutefois, selon SHELDON *et al.* [1973, in RAI, 1984] et RILEY [1965, in RAI, 1984], les grandes populations de phytoplancton naturel ne sont pas sénescents. En conclusion, les diminutions de P/R après chaque pic, sont probablement dues à des changements dans la composition taxonomique du phytoplancton, à des réponses variables de la photosynthèse et de la respiration, à la limitation en nutriments, ainsi qu'aux changements de température [DEVOL et PACKARD, 1978], ou aux différents facteurs associés.

DEVOL et PACKARD (1978) et RAI (1984) font en outre remarquer que la détermination de l'activité ETS ainsi que du rapport P/R met en évidence une surestimation de la production primaire déterminée par la méthode au ^{14}C et disponible pour les brouteurs.

Conclusions

Il semble qu'on dispose finalement de peu d'études sur l'activité respiratoire du phytoplancton, en particulier en eau douce. De plus la majorité des résultats présents dans la littérature comportent des gammes de variation très élevées [voir aussi RAI, 1988], ce qui limite la portée des conclusions tirées sur les valeurs moyennes d'activité respiratoire. D'où l'intérêt d'approfondir les recherches dans ce domaine; en effet, en-dehors des mesures ETS, la respiration du phytoplancton est souvent estimée soit par une fraction variable de la consommation d'oxygène dans des bouteilles sombres, soit à partir de mesures effectuées sur des cultures d'algues unispécifiques. Les modèles de croissance phytoplanctonique font souvent appel à ces estimations : l'activité respiratoire est estimée soit

souvent appel à ces estimations : l'activité respiratoire est estimée soit comme une fraction de l'activité photosynthétique maximale en lumière saturante (dépendant donc de la biomasse et de la température), soit comme une fonction de la concentration en Chl_a et de la température, avec un Q_{10} de l'ordre de 2. De telles estimations réalisées "à l'aveuglette" peuvent conduire à des surévaluations ou à des sous évaluations de la respiration, avec un effet secondaire sur la calibration des autres termes de disparition du phytoplancton, tels que le "grazing", la mortalité, etc...

Deuxième partie :

MATERIEL ET METHODES

I. INTRODUCTION

I.1. CADRE GENERAL D'ETUDE.

Notre travail a comporté deux étapes. La première a consisté en une mise au point de la méthode d'estimation de la respiration algale par dosage enzymatique à partir de cultures unispécifiques. Dans un deuxième temps, nous avons effectué des mesures de terrain afin de caractériser la respiration du phytoplancton de la Meuse et de la comparer à la production primaire.

Pour notre étude sur cultures unispécifiques, nous avons choisi deux espèces représentatives des deux principaux groupes présents dans la Meuse, à savoir une espèce de *Cyclotella* (diatomée) et une espèce de *Dictyosphaerium* (algue verte). Ces cultures nous ont été fournies par le Laboratoire d'Algologie de l'Université de Liège.

Pour notre étude de terrain, nous nous sommes rendus au site de La Plante. Celui-ci a été choisi en raison de sa proximité et de sa situation dans un secteur déjà bien étudié antérieurement, notamment dans le cadre d'études de l'Unité d'Ecologie des Eaux Douces [HENRIETTE, 1987].

II. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU

Lors de chaque mesures de productivité sur le terrain, outre le prélèvement d'eau destiné au dosage ETS, des analyses physico-chimiques de l'eau ont été effectuées soit directement sur le terrain, soit en laboratoire.

II.1. PRELEVEMENT ET CONSERVATION

On récolte l'échantillon d'eau à analyser au moyen d'un jerrycan de 10 litres que l'on enfonce progressivement dans l'eau en évitant les films d'hydrocarbures et les diverses impuretés flottant à la surface. De ces 10 litres, on prélève 0,5 l d'eau qui sera filtrée sur filtre Whatman GF/C en microfibrilles de verre et 0,25 l d'eau brute que l'on congèle pour analyser ultérieurement. Deux litres sont fixés au lugol et décantés progressivement en vue d'examens microscopiques pour caractériser la communauté algale.

II.2. METHODES ET MESURES

II.2.1. Température

La température de l'eau est mesurée sur le terrain au moyen d'une sonde de température WTW LF 91, avec une précision de plus ou moins 0,2°C.

II.2.2. pH

Les mesures de pH sont effectuées sur le terrain au moyen d'un pH-mètre WTW 90 dont la précision atteint 0,01 unité pH.

II.2.3. Conductivité

La conductivité est mesurée sur le terrain au moyen d'un conductimètre WTW LF 91; elle est donnée pour une température de référence de 25°C.

II.2.4. Alcalinité

L'alcalinité de l'eau est mesurée sur le terrain par titration de 50 ml d'eau par de l'acide chlorhydrique 0,02 N en présence d'un indicateur composé d'une solution alcoolique de rouge de méthyle et de vert de bromocrésol [RODIER, 1966].

II.2.5. Oxygène dissous

La mesure d'oxygène dissous est effectuée par la méthode de Winkler modifiée par ALSTERBERG. Cette méthode permet, grâce à l'addition d'un réactif alcalin et d'une solution de chlorure de manganèse, l'absorption complète de l'oxygène pour former de l'oxyde manganique. Ce dernier, en milieu acide, oxyde l'iodure de potassium préalablement introduit. L'iode ainsi libérée est titrée par du thiosulfate de sodium [RODIER, 1966].

II.2.6. Transparence de l'eau

La transparence de l'eau est mesurée sur le terrain au moyen de deux cellules photoélectriques dont l'une sert de référence au sol et l'autre est immergée à différentes profondeurs, permettant ainsi de calculer l'intensité relative (I_z) par rapport à l'intensité de surface (I_0). Les différentes profondeurs sont 0,25 m - 0,50 m - 0,75 m - 1,0 m - 1,50 m - 2,0 m - 2,50 m. Les mesures sont effectuées pour trois filtres de couleurs différentes, placés successivement devant les cellules photoélectriques : un vert, un bleu, un rouge (BG 12, VG 9, RG 630). L'utilisation de ces trois gammes de couleur permet de déterminer l'extinction de la lumière dans trois parties du spectre. Pour chaque gamme de longueur d'onde, le coefficient d'extinction est obtenu par régression du logarithme népérien de l'intensité relative en fonction de la profondeur. On détermine ensuite

le coefficient d'extinction moyen en calculant la moyenne des coefficients obtenus pour chaque filtre [VOLLENWEIDER, 1974] :

$$\eta_{\text{moy.}} = \frac{\eta_{\text{vert}} + \eta_{\text{bleu}} + \eta_{\text{rouge}}}{3}$$

II.2.7. Intensité lumineuse

La PAR (fraction photosynthétiquement active de la radiation solaire incidente) a été directement mesuré sur le terrain à l'aide d'une sonde LICOR (Li-190-S.B.) reliée à un système d'enregistrement. Occasionnellement, les intensités lumineuses totales au niveau du sol nous ont été transmises par la station de Saint Hubert de l'IRM (cette station est la plus proche de notre station d'étude). Le rayonnement global est intégré par demi-heure; on considère que la PAR constitue 50% de ce rayonnement global. Une intercalibration a été réalisée entre les données IRM et nos mesures in situ avec le quantamètre LICOR. La conversion se fait de la façon suivante :

$$\text{PAR } (\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}) = 11,083 \cdot \text{mesure IRM } (\text{J.cm}^{-2}.\text{1/2h})$$

II.2.8. Matières en suspension (M.E.S.)

La mesure des MES est réalisée par gravimétrie. Deux litres d'eau ramenés au laboratoire sont filtrés sur filtre Whatman GF/C en microfibrilles de verre. Ce filtre est pesé avant filtration et après séchage à l'étuve à 105°C (24 h). La quantité de MES est calculée par la différence de poids entre les deux pesées.

II.2.9. Azote

L'azote inorganique dissous dans l'eau est exprimé sous forme d'ammoniaque, de nitrites et de nitrates. Ces dosages sont effectués sur de l'eau filtrée.

1. Ammoniaque

L'ammoniaque est dosé par une méthode spectrophotométrique basée sur le développement d'un complexe coloré vert en présence d'ions hypochlorites, issus de l'hydrolyse alcaline du dichloroisocyanurate, de salicylate de sodium et de nitroprussiate de sodium. L'absorbance est lue à 655 nm dans des cellules de 1 cm. La limite de détection est de 0,005 mg/l $\text{NH}_4^+\text{-N}$ [Standing Committee of Analysts, 1981].

2. Nitrites

Les nitrites sont dosés par la méthode à l' α -naphtylamine; la formation d'un composé rouge permet la lecture de l'absorbance à 520 nm. La limite de détection est de 0,001 mg/l $\text{NO}_2^-\text{-N}$ [RODIER, 1975].

3. Nitrates

Les nitrates sont dosés par la méthode à l'acide chromotropique. La lecture de l'absorbance de la coloration jaune qui se forme, se fait à 410 nm. La précision de la mesure est de 0,1 mg/l $\text{NO}_3^-\text{-N}$ [WEST et RAMACHANDRAN, 1966].

II.2.10. Orthophosphates

La concentration des orthophosphates dans l'eau est mesurée à partir d'eau filtrée par la formation, en présence d'un complexe de molybdate d'ammonium en milieu acide, d'un complexe phosphomolybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, développe une coloration bleue. Celle-ci permet un dosage colorimétrique par lecture à 882 nm, de préférence dans des cellules de grande épaisseur (par exemple 2,5 cm). La précision est de 0,01 mg/l $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ [GOLTERMAN, 1969].

II.2.11. Phosphore total

La mesure du phosphore total se fait sur l'eau brute. Après oxydation par le persulfate de potassium, le phosphore total est hydrolysé en orthophosphate et dosé sous cette forme. La précision est environ de 0,01 mg/l P [WETZEL et LIKENS, 1979].

II.2.12. Silice

La teneur en silice totale réactive est mesurée sur eau brute par la méthode au molybdate de sodium. A pH acide, les ions siliciques forment un complexe jaune avec les ions molybdates; ceux-ci sont réduits pour former un complexe bleu afin d'augmenter la sensibilité. La lecture s'effectue à 815 nm. La précision est d'environ 0,1 mg/l Si [GOLTERMAN, 1969].

II.2.13. Carbone organique dissous

Le carbone organique dissous est mesuré à la station de traitement des eaux d'Eupen au moyen d'un analyseur DOHRMANN.DC. 80 sur 100 ml d'eau filtrée sur filtre Whatman GF/C et stabilisée à l' H_3PO_4 (0,5 ml).

III. MESURE DE LA BIOMASSE

III.1. PRINCIPE

L'estimation de la biomasse s'effectue par la mesure de la concentration en Chla [VOLLENWEIDER, 1974]. Le principe est de prélever un volume d'eau, de le filtrer sous vide sur un filtre en fibre de verre retenant les algues. L'extraction des pigments chlorophylliens est réalisée à l'aide d'un solvant. Le solvant choisi est un mélange dans les proportions 5/1 (vol./vol.) d'acétone 90% et de méthanol proposé par PECHAR (1987). L'extraction se fait à 65°C pendant 2 minutes. L'absorbance est mesurée à 665 nm.

La lecture de l'absorbance après acidification permet de supprimer l'erreur due à la présence éventuelle de pigments chlorophylliens dégradés [LORENZEN, 1967]. En effet, elle transforme la Chla en phéopigments, alors que cette transformation ne se produit pas pour les pigments déjà dégradés, et produit une diminution de l'absorbance. Par différence des deux lectures au spectrophotomètre on peut par conséquent déterminer la teneur en Chla active.

L'emploi comme solvant d'un mélange acétone - méthanol 5/1 combine les avantages d'une extraction quasi totale (méthanol) avec une bonne stabilité de l'extrait et une mesure fiable des phéopigments grâce à une acidification sans problème de déplacement de spectre (acétone). Les problèmes de stabilité des pigments chlorophylliens et de l'acidification des extraits alcooliques ont été traité par MARKER *et al.* (1980).

III.2. PROCEDURE

On filtre un prélèvement d'eau sous vide, sur filtre Whatman GF/C de 25 mm de diamètre, de manière à avoir une concentration en Chla dans l'extrait située plus ou moins entre 0,01 µg et 0,03 µg. Les filtres sont placés dans des tubes de centrifugation dans lesquels on ajoute 10 ml de solvant. L'extraction s'effectue dans un bain à 65°C pendant deux minutes. On sort ensuite les filtres du tube et la solution est centrifugée à la centrifugeuse de table pendant cinq minutes. On prélève ensuite 3 ml d'extrait et l'on mesure l'absorbance à 665 nm dans des cellules de 1 cm de trajet optique. Le même extrait est ensuite acidifié par 0,1 ml de HCl 0,1N. Une à deux minutes après mélange, l'absorbance est à nouveau mesurée à 665 nm. Un blanc solvant est réalisé pour la mise à zéro du spectrophotomètre.

III.3. EXPRESSION DES RESULTATS

La formule générale de calcul de la teneur en Chla est la suivante [MARKER et al., 1980] :

$$C = (D_b - D_a) \cdot \frac{R}{R - 1} \cdot k \cdot \frac{v}{V \cdot l}$$

où C = teneur en Chla en mg.m⁻³

D_b = densité optique avant acidification

D_a = densité optique après acidification

R = "acid ratio" maximum

$$k = \frac{1\ 000}{SAC}$$

v = volume de solvant en ml

V = volume total d'eau filtrée en ml

l = longueur du trajet optique de la cellule en cm

L'"acid ratio" est le rapport entre l'absorbance de la Chla pure à 665 nm avant et après acidification selon la méthode de PECHAR (op cit.), ce rapport maximum est de 1,695.

Le SAC (Specific Absorption Coefficient) de la Chla dans ce mélange acétone - méthanol 5/1 est de $84,1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Par conséquent, on peut écrire la relation exprimant la teneur en Chla pour le mélange acétone - méthanol 5/1 comme suit :

$$\text{Chla } (\mu\text{g/l}) = (D_b - D_a) \cdot 2,439 \cdot 11,89 \cdot \frac{v}{V \cdot l}$$

III.4. REMARQUE

Lors de nos manipulations, nous avons utilisé par erreur un mélange méthanol - acétone 5/1 plutôt que acétone - méthanol 5/1. Nous avons réalisé une intercalibration des dosages effectués à partir de ces deux mélanges afin de vérifier la fiabilité de nos résultats. Les différences entre les valeurs de teneurs en Chla se sont avérées non significatives. On a toutefois pu observer des erreurs manifestes (valeurs négatives) sur la détermination des teneurs en phéopigments à partir des extraits à forte proportion en méthanol.

IV. DOSAGE ETS [Réf. principale : RAI, 1984]

IV.1. REACTIFS

1) Solution stock : KH_2PO_4 0,1 M : 13,6 g dans 1 l

2) Solution stock : Na_2HPO_4 0,1 M : 14,2 g dans 1 l

3) Tampon substrat : 97 ml de solution (2)
 2,8 ml de solution (1)
 Ajuster à pH 8,25
 Ajouter 0,3 ml de TRITON X-100

Garder congelé.

4) Substrat : 70,9 mg de NADH (1 mM)
 20,8 mg de NADPH (0,25 mM)
 100 ml de tampon substrat

Préparer quotidiennement et conserver à 4°C.

5) Tampon d'homogénéisation : 96 ml de solution (2)
 3 ml de solution (1)
 1 ml de solution MgSO_4 0,9 g/l
 150 mg de PVP (polyvinylpyrrolidone)
 0,3 ml de TRITON X-100
 Ajuster à pH 8,25

Garder congelé.

6) INT : 20 mg d'INT [chlorure de 2-(p-iodophényl)-3-(p-nitrophényl)-
 5 phényl tétrazolium]
 10 ml d' H_2O distillée
 0,16% vol.-vol. de TRITON X-100

Préparer quotidiennement et conserver à 4°C.

7) Mixture de terminaison de la réaction :

50% d' H_3PO_4 1M

50% de formaldéhyde 4%

Conserver à 4°C.

IV.2. PRINCIPE

La mesure de l'activité ETS consiste en un dosage enzymatique de l'étape limitante de la chaîne de transporteurs d'électrons respiratoires. La formation d'un composé rouge permet une mesure colorimétrique, par lecture au spectrophotomètre à 490 nm.

Dans un premier temps, on détermine le volume optimal nécessaire pour le dosage par mesure de la biomasse. En effet, pour se situer dans une bonne gamme lors de la lecture au spectrophotomètre, nous avons déterminé que, pour un dosage à 20°C, la quantité optimale de Chla se situe entre 3,5 et 4,5 µg, dans le cas d'homogénéisation par sonication. Un réajustement est nécessaire lorsque l'on travaille à des températures inférieures, l'activité ETS étant d'autant moins élevée que la température est plus basse.

Après concentration et resuspension dans du tampon d'homogénéisation, les cellules sont broyées afin de rendre les chaînes de transporteur d'électrons disponibles à la réaction. Durant cette étape, les échantillons sont maintenus entre 0 et 4°C, dans un bain de glace.

La réaction est réalisée par addition d'INT, dans un bain thermostatisé. Le tampon substrat permet la saturation des chaînes ETS en donneurs d'électrons NADH et NADPH.

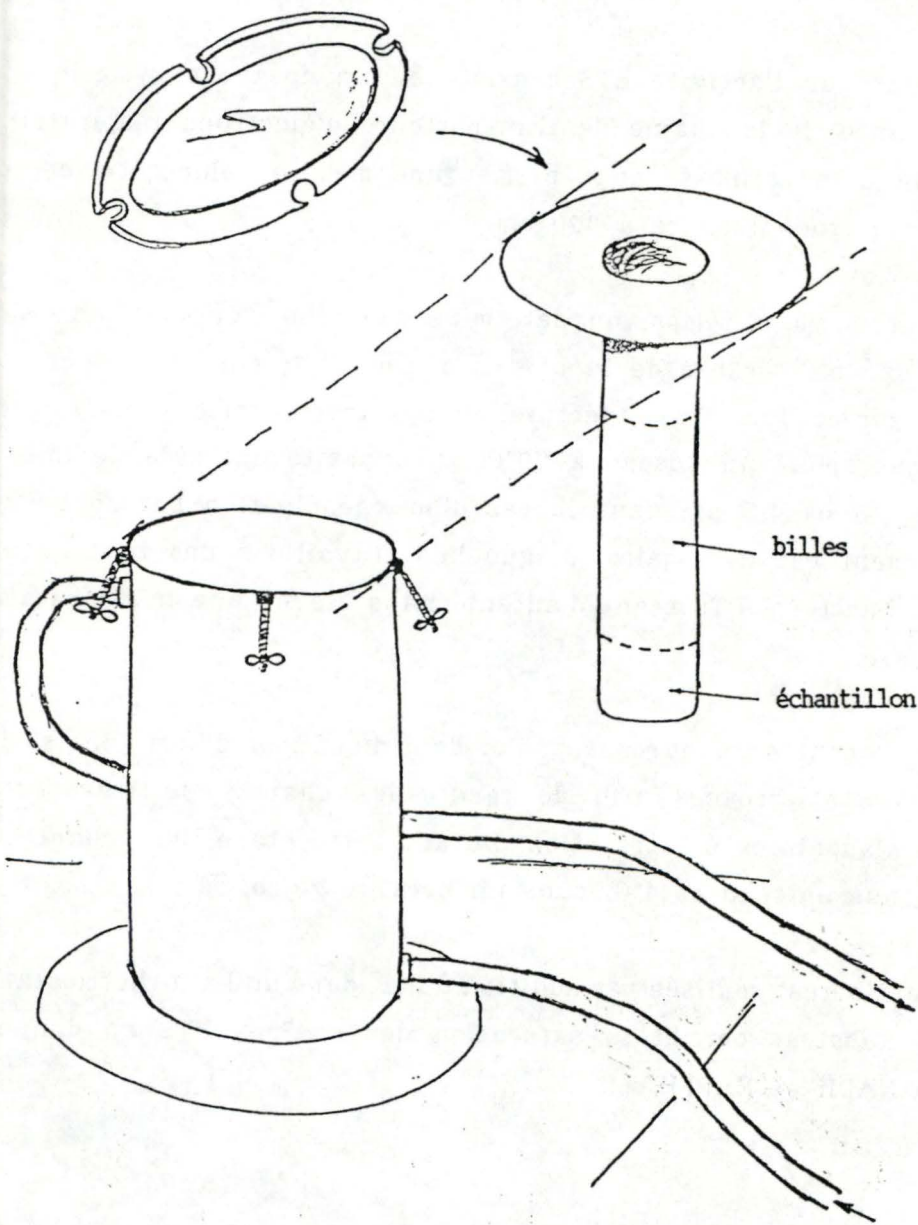


Fig.2.1 - Broyeur à billes

IV.3. PREPARATION DES ECHANTILLONS

Selon que l'on travaille à partir de cultures d'algues ou d'échantillons de terrain, la méthode utilisée diffère.

Dans le cas de cultures, les échantillons sont concentrés par centrifugation durant 5 minutes dans une centrifugeuse de table. Les culots sont ensuite resuspendus dans 3 ml de tampon d'homogénéisation. Dans la mesure du possible, nous avons travaillé avec des cultures d'environ 0,35 - 0,40 mg Chl_a/l afin de prélever des échantillons de 10 ml. Ce volume nous permet de n'utiliser qu'un seul tube de centrifugation par échantillon (capacité de 10 ml) et en même temps de minimiser les risques d'hétérogénéité liés à de faibles prises d'essais. Les prélèvements sont effectués sous bonne agitation de la culture.

En ce qui concerne les prélèvements de terrain, les faibles biomasses ne permettent pas la concentration par centrifugation. Les échantillons d'eau sont filtrés sur filtres GF/C de 25 mm de diamètre. Les filtres sont ensuite broyés au potter dans 3 ml de tampon d'homogénéisation et dans un bain de glace. Au préalable, le prélèvement est filtré sur un filtre de 100 µm afin d'éliminer la fraction de zooplancton.

IV.4. BROYAGE

Trois systèmes de broyage ont été utilisés lors de la mise au point de la méthode : le broyeur à billes, la bombe à éclatement de cellule et la sonication.

IV.4.1. Le broyeur à billes (fig.2.1)

Cette méthode a été choisie en premier lieu en raison de la parenté de ce broyeur avec le broyeur décrit dans la littérature : "micro-dismembrator II" (B. Braun, West Germany) [RAI, 1984].

Principe : Le broyeur à billes consiste en un tube en téflon d'une dizaine de cm de long dans lequel on verse l'échantillon à broyer, puis

que l'on remplit au 4/5 de billes. Le cylindre est fixé dans un container dans lequel passe un circuit d'eau refroidie par cryostat entre 0 et 4°C. En raison de l'échauffement important provoqué par l'agitation qui réalise le broyage, les billes ainsi que le tube sont préalablement congelés. Dans ces conditions, on maintient la température de l'échantillon entre 0 et 4°C.

Mise au point : Nous avons déterminé expérimentalement le diamètre adéquat des billes par broyage de 5 minutes [RAI, 1984], puis observation microscopique. Les billes dont nous disposions étaient de 1 mm ou de 100 µm de diamètre. L'expérience a été menée pour deux espèces d'algues : *Scenedesmus* sp. et *Cyclotella meneghiniana* Kütz.. Dans les deux cas, seules les billes de 1 mm de diamètre ont permis un broyage.

Nous avons ensuite déterminé le temps minimum nécessaire au broyage de *Cyclotella*, afin de limiter au maximum l'échauffement de l'échantillon; il est de 3 minutes.

Inconvénients : Cette méthode possède néanmoins de gros inconvénients. En effet, après broyage, l'échantillon doit être récupéré par filtration sous vide et nécessite en outre un lavage des billes. En effet, ce type de broyeur nécessite une quantité de billes 4 à 5 fois plus importante en volume que l'échantillon. Celui-ci, au cours du broyage, s'émulsionne autour des billes. Un lavage important serait donc nécessaire pour laver entièrement les billes; 5 ml de tampon d'homogénéisation suffisent à prélever 1 ml d'homogénat nécessaire à la réaction. Cette procédure risque toutefois d'introduire une forte hétérogénéité dans la mesure en plus d'une dilution supplémentaire. L'hétérogénéité est encore accentuée par le grand nombre d'étapes de l'homogénéisation de l'échantillon. En outre, cette méthode rend difficile le traitement de plusieurs échantillons simultanément.

IV.4.2. La bombe à éclatement de cellules (PAAR 4639 - 45 ml)

Principe : De grandes quantités d'azote sont dissoutes dans la cellule sous haute pression. Ensuite, quand la pression de gaz est brusquement relâchée, l'azote sort de la solution sous forme de bulles qui élargissent les membranes de chaque cellule jusqu'à ce qu'elles se rompent et libèrent le contenu des cellules.

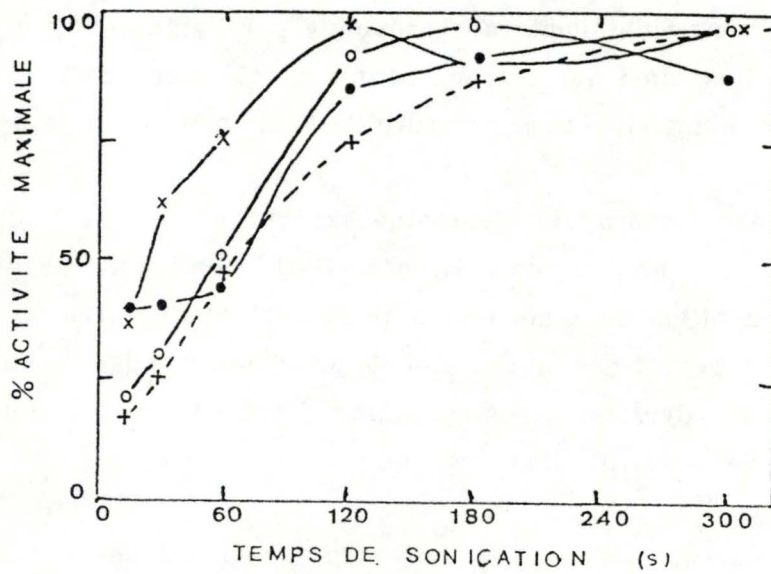


Fig.2.2 - Activité ETS relative en fonction du temps de sonication pour quatre espèces de bactéries. Les points sont les moyennes de quelques réplicats (généralement 3). L'erreur standard moyenne pour 180 s est $\pm 10\%$. Les échantillons ont été soniqués durant des intervalles de 15 à 30 s à la puissance la plus faible sur une sonde BRUNSON S-125.

o : *Vibrio* partiellement caractérisé

o : *Serratia marinatorubra*

+ : *Vibrio adaptatus*

x : *Vibrio anguillarum* [CHRISTENSEN et PACKARD, 1977]

Remarque : Ce système a été rapidement abandonné en raison à la fois de la perte de matériel occasionné par la brusque dépression, et par la durée de l'opération ne permettant pas le traitement de plusieurs échantillons simultanément.

IV.4.3. La sonication

Cette méthode a été utilisée par CHRISTENSEN et PACKARD (1977) pour l'étude de l'activité ETS dans les sédiments. Il s'agissait alors de bactéries. L'optimum du temps de sonication avait été déterminé comme exposé à la figure 2.2.

Principe : Il s'agit d'une sonde émettant des ultra-sons que l'on plonge de 2 - 3 mm dans l'échantillon. Le tube à essai contenant ce dernier est maintenu dans un berlin de glace. De plus, la sonication est réalisée par tranches de 30 secondes suivies de 30 secondes de refroidissement à la fois de l'échantillon et de la sonde, dans de la glace.

Mise au point : Nous avons déterminé le temps de sonication optimum par dosage ETS sur des échantillons soniqués durant des temps différents (par tranches successives de 30 secondes) et ce pour les deux espèces d'algues en culture, *Cyclotella meneghiniana* Kütz. et *Dictyosphaerium ehrenbergianum* Naeg., ainsi que pour les échantillons de terrain, une première fois à dominance de diatomées et une seconde fois, après apparition du "bloom" d'algues vertes. Nous avons travaillé à la puissance la plus élevée.

Il est à noter que l'homogénéisation par sonication augmente l'activité ETS de 4 à 5 fois (voir 1^{ère} partie III.3.2.).

C'est cette méthode que nous avons choisie d'utiliser pour la suite de notre mise au point.

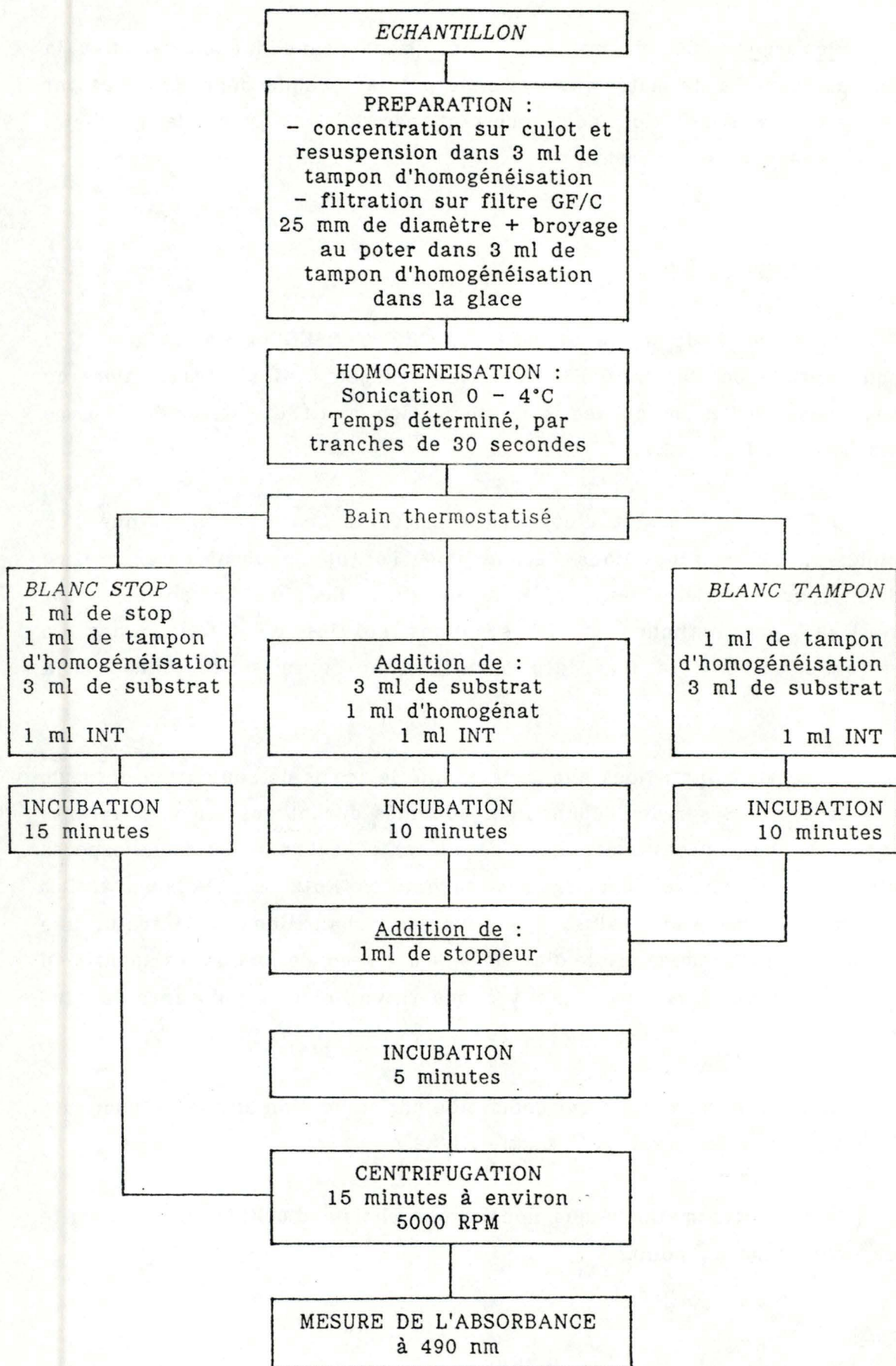


Fig.2.3 - Diagramme présentant le traitement des échantillons pour le dosage ETS [modifié de RAI, 1984].

IV.5. PROCEDURE DE DOSAGE (fig.2.3)

Les échantillons soniqués sont placés dans un bain thermostatisé afin de s'équilibrer à la température de réaction; la réaction est poursuivie dans ce bain.

On ajoute dans chaque tube de réaction 3 ml de substrat, ainsi qu'une portion de 1 ml d'homogénat. La réaction débute après addition de 1 ml d'INT; on laisse alors incuber pendant 10 minutes. La réaction est arrêtée par addition de 1 ml de mixture de terminaison de réaction, suivie d'une incubation de 5 minutes. Deux blancs sont réalisés en parallèle avec la réaction sur les échantillons. Dans le premier, le blanc stop, on incorpore le stoppeur avant incubation; le second contient les réactifs dans l'ordre précité mais non l'homogénat, qui est remplacé dans les deux blancs par 1 ml de tampon d'homogénéisation.

Après incubation, la solution de formazan est clarifiée par centrifugation à 5 000 rpm pendant 15 minutes. La densité optique est mesurée au spectrophotomètre à 490 nm dans une cuvette de 1 cm de longueur de trajet optique; le blanc stop sert à la mise à zéro. Notons la nécessité de réaliser ces différentes étapes dans les délais les plus brefs pour ne pas risquer une détérioration des solutions, ce qui entraîne une variabilité importante dans les résultats.

IV.6. EXPRESSION DES RESULTATS

L'activité ETS est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité ETS} = \frac{E_{\text{cor}} \cdot V_{\text{hom}} \cdot 60 \cdot V \cdot 1000 \cdot 1,42^*}{1,42 \cdot V_{\text{sam}} \cdot 10}$$

exprimée en $\mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$

où E_{cor} = extinction corrigée contre le blanc tampon.

V_{hom} = volume de l'homogénat en ml (3 ml)

60 = facteur de conversion en heure

1000 = facteur de conversion en litre

1,42* = facteur de conversion du volume d'O₂ en masse d'O₂

1,42 = $\mu\text{mole volume d'O}_2/\text{extinction de 2 } \mu\text{moles d'INT.ml}^{-1}$
(extinction par $\mu\text{l O}_2$ à 490 nm dans une cuvette de 1 cm de trajet optique)

V_{sam} = volume de l'échantillon d'eau de départ en ml.

10 = temps de réaction en minutes (période d'incubation).

V = volume de la réaction finale en ml (5ml).

IV.7. ACTIVITE RESPIRATOIRE

Lors de chaque campagne de mesure effectuée dans le cadre de ce travail, nous avons réalisé un dosage ETS sur un prélèvement d'eau de Meuse effectué après avoir lancé l'incubation au ^{14}C . Il nous fallait ensuite transformer les résultats obtenus en valeurs de respiration. Nous avons choisi d'appliquer comme coefficient du rapport R/ETS la valeur de 0,17 qui semble être la valeur moyenne obtenue pour de nombreuses expérimentations (voir tableau 1.2 et 1.3). Il semblerait toutefois que l'homogénéisation par sonication conduise à des rapports R/ETS plus faibles (voir tableau 1.2) [PACKARD et CHRISTENSEN, 1979], mais ne possédant qu'une seule valeur à ce sujet, nous avons préféré utiliser, en première approximation, la valeur de 0,17.

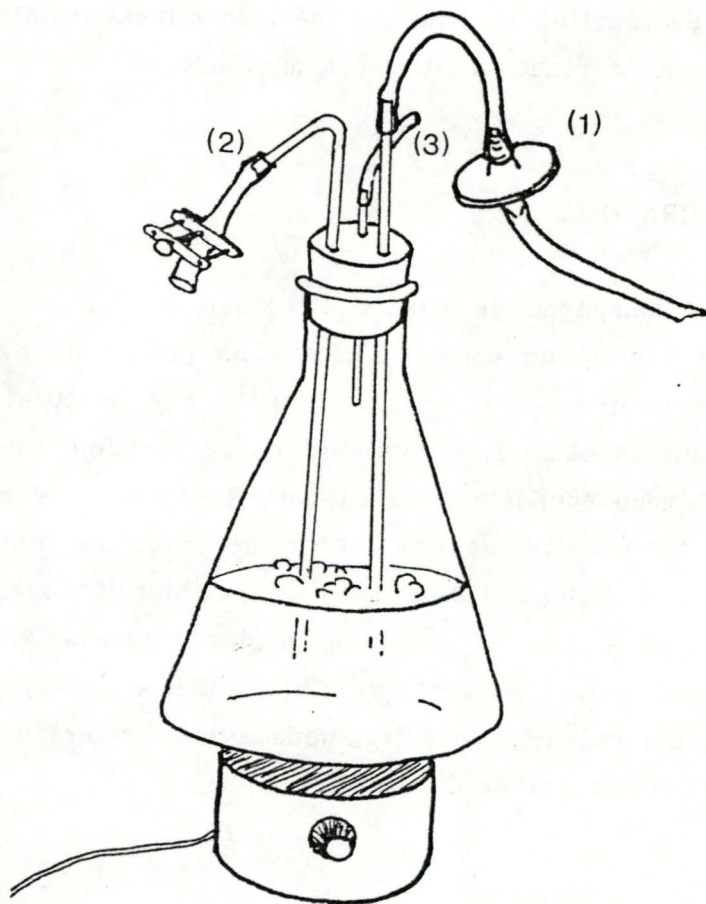


Fig.2.4 - Fiole conique utilisée pour les cultures liquides d'algues.
(1) apport d'air comprimé via un filtre 0,2 μ m
(2) tube de prélèvement
(3) tube de sortie des gaz

V. CULTURES D'ALGUES UNISPECIFIQUES

V.1. CONSERVATION ET MISE EN CULTURE

Les souches d'algues sont isolées et maintenues au Laboratoire d'Algologie de l'Université de Liège, à partir d'échantillons de Meuse ou du Canal Albert. Elles sont ensuite traitées aux antibiotiques de manière à les rendre axéniques.

Les souches de collection sont maintenues sur milieu de culture solide coulé dans des éprouvettes, et conservées pendant 2 - 3 mois en chambre froide à 12 - 13°C. La première semaine, les tubes sont placés à la lumière, aux intensités suivantes :

- Diatomées : 50 - 100 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
- Algues vertes : 100 150 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Ensuite, ils sont gardés sous intensité lumineuse plus faible (mais pas à l'obscurité!). Le milieu utilisé est le milieu de SCHLOESSER auquel on ajoute une solution de micronutriments, ainsi que des vitamines. Le milieu est stérilisé par autoclavage avant adjonction des vitamines qui sont filtrées pour leur conserver leur activité. Pour rendre le milieu solide, on ajoute de l'agar.

Ces souches sont ensuite repiquées sur boîte de Pétri, sur le même milieu solide. Ces nouvelles souches peuvent être conservées quelques semaines et servent à la mise en culture liquide. Elles sont également conservées à 12 - 13°C. Certaines espèces ne poussant pas bien sur milieu solide sont conservées en milieu liquide.

La mise en culture se fait généralement dans 1 litre de milieu liquide, contenu dans de grandes fioles coniques (fig.2.4). Cette fiole est fermée par un bouchon de caoutchouc possédant trois tubes en verre :

- un long tube de prélèvement

- un long tube d'apport d'air comprimé sur lequel est fixé un filtre de $0,2\mu\text{m}$ de porosité
- un tube court pour la sortie des gaz.

L'extrémité de chacun des tubes est prolongée par un petit caoutchouc. Une pince de Mohr ferme le tube de prélèvement. Le prélèvement se fait en ouvrant la pince et en pinçant le tube de sortie des gaz; la surpression qui en résulte provoque une montée de liquide dans le tube de prélèvement.

Les cultures sont mises à incuber en chambre thermostatée sur agitateur magnétique et avec un "bullage" d'air comprimé. L'intensité lumineuse est de $125 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. La température optimale pour les algues vertes est de 20 à 25°C et pour les diatomées de 13°C. Pratiquement, toutes les cultures sont conservées à environ 20°C.

V.2. UTILISATION DES CULTURES

Au laboratoire d'Ecologie des Eaux Douces, nous avons conservé les cultures liquides dans un incubateur à 20°C et sous une intensité lumineuse de $135 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Les cultures liquides étaient généralement préparées au laboratoire d'Algologie à l'Université de Liège par Madeleine MEURICE. Nous n'avons que rarement effectué les repiquages et mise en culture nous-mêmes en dehors d'un stage effectué au Laboratoire d'Algologie de l'Université de Liège.

Lors de notre travail sur cultures d'algues, nous avons conservé une même culture parfois plus d'une semaine en effectuant des dilutions successives, lors des mises au point de la méthode. Pour les mesures finales, nous avons utilisé des cultures fraîches, non contaminées, éventuellement diluées la veille avec du milieu de culture stérile frais pour obtenir la concentration souhaitée pour notre mesure.

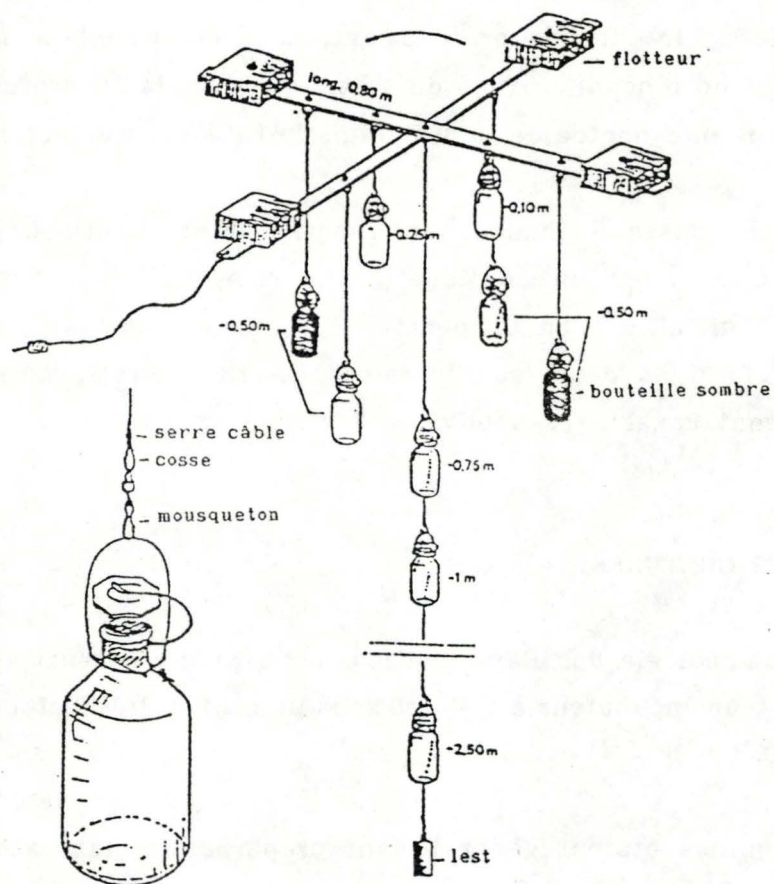


Fig.2.5 - Système de croisillon utilisé pour les incubations in situ.

VI. EVALUATION DE LA PRODUCTION PRIMAIRE

Nous avons choisi, pour estimer la production primaire phytoplanctonique, la méthode au ^{14}C .

VI.1. PRINCIPE

L'échantillon d'eau comprenant les algues est incubé en présence d'un ajout d'activité connue de bicarbonate- ^{14}C ($\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$). Après incubation, les échantillons sont filtrés. L'activité des filtres ayant retenu les algues qui ont assimilé du ^{14}C à la lumière, est mesurée au compteur à scintillation. Le rapport (activité du filtre / activité initiale de l'eau) donne un taux d'incorporation de carbone que l'on affecte à la quantité totale de ^{12}C minéral présent dans l'échantillon pour déterminer le C assimilé pendant l'incubation. Une incubation à l'obscurité est réalisée pour estimer la fixation hétérotrophe de C.

VI.2. MATERIEL

Le système utilisé pour procéder à l'incubation sur le terrain est un croisillon constitué de deux lattes métalliques de 80 cm de long assemblées en croix (fig.2.5). Elles sont équipées de flotteurs. Les bouteilles sont suspendues à différentes profondeurs : 0,10 m - 0,25 m - 0,50 m - 0,75 m - 1,0 m - 1,5 m - 2,0 m - 2,5 m. A 0,50 m, on met incuber deux bouteilles, en raison du risque d'ombrage provoqué par les lattes du croisillon parfois observé. Les deux bouteilles sombres sont également mises à incuber à 0,50 m.

VI.3. PROCEDURE

On prélève un échantillon d'eau pour le remplissage des bouteilles d'incubation que l'on verse dans une bouteille noircie de 1,5 l. On ajoute une ampoule de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ dont l'activité est d'environ 24 à 25 microcuries; l'activité de l'échantillon est dès lors d'environ 30 000 cpm/ml.

De cette eau marquée, on prélève deux témoins de l'activité initiale, de 0,5 ml, que l'on place dans un tampon basique de phényléthylamine (0,25 ml) avec 5 ml de liquide scintillant Beckmann MP; l'ensemble des fioles à scintillation aura été préparé préalablement à la venue sur le terrain.

L'échantillon d'eau est ensuite réparti dans les différentes bouteilles (100 ml) qui sont ensuite rapidement mises à l'eau pour incubation. On veille à ce que les manipulations soient effectuées le plus rapidement possible et au maximum à l'abri de la lumière afin de ne pas fausser les valeurs d'incorporation de ^{14}C . Pour ce faire, on attachera les bouteilles au croisillon en commençant par celles qui recevront la plus forte intensité lumineuse (c'est à dire qui seront situées à plus faibles profondeurs) pour finir par celles qui se trouveront à plus grande profondeur. On réalise également deux bouteilles sombres en les emballant dans une feuille de papier aluminium. On laisse incuber pendant 2 - 4 heures suivant la biomasse présente, la température, l'intensité lumineuse ...

Idéalement, l'incubation doit être réalisée pendant la période de la journée où l'intensité lumineuse dans la partie supérieure de la colonne d'eau est saturante. Compte tenu du décalage de l'horaire d'été par rapport à l'heure solaire, cette période, pour l'intervalle de temps où ont été réalisées nos incubations (avril - juin), se situe entre 12 h et 18 h.

En fin d'incubation, l'assimilation de C est stoppée et le contenu de chaque bouteille stabilisé par l'ajout de 1 ml de formol (5%).

Dans les 24 h, 50 ml de chaque bouteille sont filtrés sur filtres Millipore HA 0,45 μm de 25 mm de diamètre. Après rinçage, celui-ci est déposé dans une fiole à scintillation contenant 5 ml de liquide scintillant Beckmann MP. L'activité des algues contenues sur chaque filtre ainsi que celle des témoins est mesurée au compteur à scintillation.

VI.4. EXPRESSION DES RESULTATS

La valeur exacte de l'activité est obtenue en déduisant de la valeur mesurée pour chaque échantillon provenant des bouteilles claires, la valeur moyenne obtenue pour les bouteilles sombres. Le rapport entre l'activité exacte ainsi obtenue et l'activité initiale de l'échantillon représente le taux de carbone assimilé à la lumière par les algues.

On suppose que le taux d'assimilation du carbone non marqué (CO_2 - HCO_3^-) présent dans l'eau au départ de l'incubation est égal au taux d'assimilation du carbone marqué (bicarbonate- ^{14}C). Ainsi, à la discrimination isotopique près, on a :

$$\frac{{}^{14}\text{C}_{\text{fixé}}}{{}^{14}\text{C}_{\text{initial}}} = \frac{{}^{12}\text{C}_{\text{fixé}}}{{}^{12}\text{C}_{\text{initial}}}$$

ou

$${}^{12}\text{C}_{\text{fixé}} = {}^{12}\text{C}_{\text{initial}} \cdot \frac{{}^{14}\text{C}_{\text{fixé}}}{{}^{14}\text{C}_{\text{initial}}}$$

Le ${}^{12}\text{C}_{\text{initial}}$ est calculé à partir du titre alcalimétrique complet (TAC) et du pH. Il correspond au CO_2 total présent dans l'eau au moment du prélèvement. Le carbone par unité de temps pendant la période d'incubation est dès lors déterminé par la relation suivante :

$$C_{\text{fixé}} = \frac{A - B}{A_i \cdot V} \cdot {}^{12}\text{C} \cdot 1,06 \cdot \frac{1}{t}$$

en $\text{mg C.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$

- où
- A = activité du filtre correspondant à l'échantillon
 - B = activité de la moyenne des filtres correspondant aux flacons sombres
 - A_i = activité initiale du témoin en cpm/ml
 - V = volume de l'échantillon filtré en ml (50)
 - ${}^{12}\text{C}$ = carbone inorganique total déterminé à partir du pH et du TAC (mg/l)
 - 1,06 = correction pour la discrimination isotopique
 - t = temps d'incubation en heure.

VI.5. EVALUATION DE LA PRODUCTION JOURNALIERE

Nous avons utilisé un programme informatique qui a calculé les différents paramètres I_k , K_{opt} et production journalière.

La production journalière est calculée à partir de l'intensité lumineuse de surface transmise par l'IRM et intégrée de demi-heure en demi-heure $I_{(z,t)}$, et du coefficient d'atténuation de la lumière (η) mesuré sur le terrain, par la relation :

$$PJ = \int_0^d \int_l^c 2 K_{max} Chla \frac{I_{(z,t)}/2 I_k}{1 + [I_{(z,t)}/2 I_k]^2} dt dz$$

- où PJ = production journalière exprimée en $g C.m^{-2}.j^{-1}$
 K_{max} = taux maximal de photosynthèse normalisé par rapport à la biomasse phytoplanctonique "active" ($g C/g Chla/h$).
 $I_{(z,t)}$ = intensité lumineuse photosynthétiquement active ($J.cm^{-2}$) (intégrée par demi-heure);
 I_k = constante de saturation ($J.cm^{-2}.h^{-1}$)
d = profondeur de la colonne d'eau
l et c = moments de lever et de coucher du soleil.

Cette double intégration est dérivée de la formule de VOLLENWEIDER (1965).

Les paramètres I_k et K_{max} sont calculés à partir d'une courbe P-I tracée par interpolation des données de l'incubation réalisée. L'intensité lumineuse aux différentes profondeurs $[I_{(z,t)}]$ est calculée tous les 10 cm.

Troisième partie :

RESULTATS

I. OPTIMISATION DU TEMPS DE SONICATION

I.1. CULTURES

I.1.1. *Dictyosphaerium* (algue verte)

Après avoir cherché, par essais successifs sur différentes périodes de temps, le temps optimum de sonication pour *Dictyosphaerium ehrenbergianum*, nous avons réalisé, sur une même journée, cinq séries de sonications pour quatre périodes de temps choisies, à savoir 3-6-9-12 minutes. Après dosage ETS, nous pouvions ainsi comparer les résultats d'une même série, chaque échantillon de la série provenant d'un même prélèvement sur la culture et présentant donc les mêmes caractéristiques physiologiques (tableau 3.1). Le graphique de la figure 3.1 présente les moyennes de l'activité ETS ramenée à la Chla pour chaque temps de sonication, et pour quatre séries d'échantillons incubés à la même température (22,5°C).

Si l'on considère les écarts-types, également représentés sur le graphique, on constate que l'activité ETS après des temps de sonication de 6-9 et 12 minutes n'est pas significativement différente. Toutefois, nous avons choisi comme temps de sonication "optimal", la valeur 9 minutes en raison de son coefficient de variation inférieur à 10%. Si on augmente le temps de sonication, on observe une augmentation de la valeur du coefficient de variation, sans doute en raison d'une détérioration possible des systèmes enzymatiques; dans ce cas une augmentation des ruptures cellulaires n'irait plus toujours de pair avec un accroissement de l'activité enzymatique.

I.1.2. Cyclotella (diatomée)

Nous avons procédé de la même manière pour *Cyclotella meneghiniana* (tableau 3.2 et fig.3.2), mais en soniquant cette fois nos échantillons dans une gamme de temps plus courts. En effet, la paroi des *Cyclotella*, comme toutes les diatomées, est constituée de deux valves siliceuses qui peuvent facilement se séparer. Les algues vertes telle *Dictyosphaerium* sont plus réfractaires en raison de leur paroi cellulosique continue plus ou moins épaisse. Notons par ailleurs que les cellules de cultures sont généralement beaucoup plus résistantes que les communautés naturelles. [DESCY, comm. pers.].

Nous n'observons dans ce cas aucune différence significative entre les différents temps de sonication. Nous avons toutefois rejeté la valeur de deux minutes afin de nous assurer une durée de sonication suffisante qui réduise la variabilité due à l'efficacité de sonication. En effet, si l'échantillon est mal positionné par rapport à la sonde, il peut s'ensuivre un échauffement important de celui-ci ou simplement une diminution de l'efficacité de rupture des cellules. Or le positionnement de chaque échantillon demande au minimum une dizaine de secondes. Nous avons donc choisi la valeur de quatre minutes afin par ailleurs de réduire au maximum la durée de la sonication.

Dans un second temps, nous avons soniqué conjointement quatre échantillons durant le temps déterminé comme optimal, afin de tester la reproductibilité de la mesure. Nous avons utilisé pour ce faire *Dictyosphaerium*, que nous avons soniqué pendant 9 minutes. En ne considérant que les trois valeurs les plus distinctes (tableau 3.3), nous observons un coefficient de variation de 5%, ce qui assure une bonne reproductibilité de la mesure.

I.2. TERRAIN

En ce qui concerne l'optimisation du temps de sonication des échantillons de terrain, un prélèvement unique est réalisé en début de journée et les différentes séries de sonication ont lieu successivement et sont directement suivies du dosage ETS, comme dans le cas précédent.

Nous ne pouvons dès lors plus comparer directement l'activité enzymatique des différentes séries car les conditions de conservation du prélèvement d'eau ne sont pas optimales et par conséquent l'état des cellules peut varier. Dès lors, nous avons exprimé nos résultats en pour cent de l'activité maximale mesurée pour chaque série d'échantillons.

Dans un premier temps, le 19 avril, nous avons soniqué une série d'échantillons pour une gamme de temps relativement large s'étendant entre 2 et 10 minutes avec une valeur toutes les deux minutes (tableau 3.4). Comme l'activité ETS la plus élevée correspondait au temps de sonication de 2 minutes, nous avons choisi des temps inférieurs à savoir 30 secondes-1-2-3 et 4 minutes. Nous n'avons réalisé que deux séries de mesures de sorte que nous ne pouvons pas calculer d'écart-type, mais nous n'observons pas de différence significative jusque 3 minutes y compris. Pour les mêmes raisons qu'exposées concernant l'optimisation du temps de sonication de *Cyclotella*, nous avons choisi la valeur de 3 minutes.

Nous avons également redéterminé le nombre d'échantillons nécessaires pour assurer une bonne reproductibilité de la mesure : il est de 5, pour un coefficient de variation se rapprochant cette fois de 10% (C.V.= 8,7%) (tableau 3.5). En effet, le filtre broyé qui reste dans l'échantillon introduit une variabilité supplémentaire tant au niveau de la sonication que du dosage proprement dit.

La deuxième expérience d'optimisation du temps de sonication a été réalisée le 9 mai, lorsque nous avons constaté le changement de coloration des eaux de la Meuse, indiquant ainsi un changement de dominance d'espèces phytoplanctoniques à l'avantage des algues vertes (tableau 3.6). Comme la première fois, nous avons commencé par une série couvrant une large gamme de durées de sonication afin de déterminer la zone approximative d'optimum. Ensuite, nous nous sommes limités à des temps compris entre 2 et 6 minutes et espacés chacun de 1 minute. Les deux séries de mesures réalisées alors présentant une telle variabilité, nous avons refait deux séries de mesures le lendemain (tableau 3.7). Nous ne constatons pas de différences significatives entre les mesures réalisées pour les différents temps de sonication (tableau 3.8). Nous avons dès lors à nouveau choisi 3 minutes comme optimum de temps de sonication.

Il est donc intéressant de constater que le même temps de sonication est apparemment optimal pour les différentes compositions phytoplanctoniques. Ceci nous assure une comparaison fiable des résultats obtenus tout au long de notre campagne de mesures.

Tableau 3.1
OPTIMISATION DU TEMPS DE SONICATION POUR CULTURE
de *Dictyosphaerium ehrenbergianum* Naeg.

Temps de sonicat° min	Activité ETS ($\mu\text{g O}_2 \cdot (\mu\text{g chl a})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)				Moyenne	Ecart-type	Coeff. de var. %
	I	II	III	IV			
3	5.63	5.51	5.71	6.75	5.90	0.57	9.7
6	6.38	6.75	7.68	8.51	7.33	0.96	13.1
9	7.00	7.54	8.34	8.71	7.90	0.77	9.8
12	5.50	6.75	8.12	8.90	7.32	1.50	20.5

Tableau 3.2
OPTIMISATION DU TEMPS DE SONICATION POUR CULTURE
de *Cyclotella meneghiniana* Kütz.

Temps de sonicat° min	Activité ETS ($\mu\text{g O}_2 \cdot (\mu\text{g chl a})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)				Moyenne	Ecart-type	Coeff. de var. %
	I	II	III	IV			
2	9.00	10.53	9.69	8.07	9.32	1.04	11.2
4	9.61	11.32	10.29	9.66	10.22	0.80	7.8
6	10.33	11.58	9.69	9.66	10.32	0.90	8.7
8	9.31	10.79	10.17	9.29	9.89	0.73	7.4

Tableau 3.3
REPRODUCTIBILITE DU DOSAGE ETS
POUR ECHANTILLONS DE CULTURE (*D. ehrenbergianum*).

Temps de sonication : 9 min.

Echantill.	Activ.ETS
1	5.49
2	5.27
3	5.82
4	5.38

4 mesures $\bar{x} = 5.49$
 $\sigma = 0.24$
C.V. = 4.33%

3 mesures $\bar{x} = 5.53$
 $\sigma = 0.28$
C.V. = 5.00%

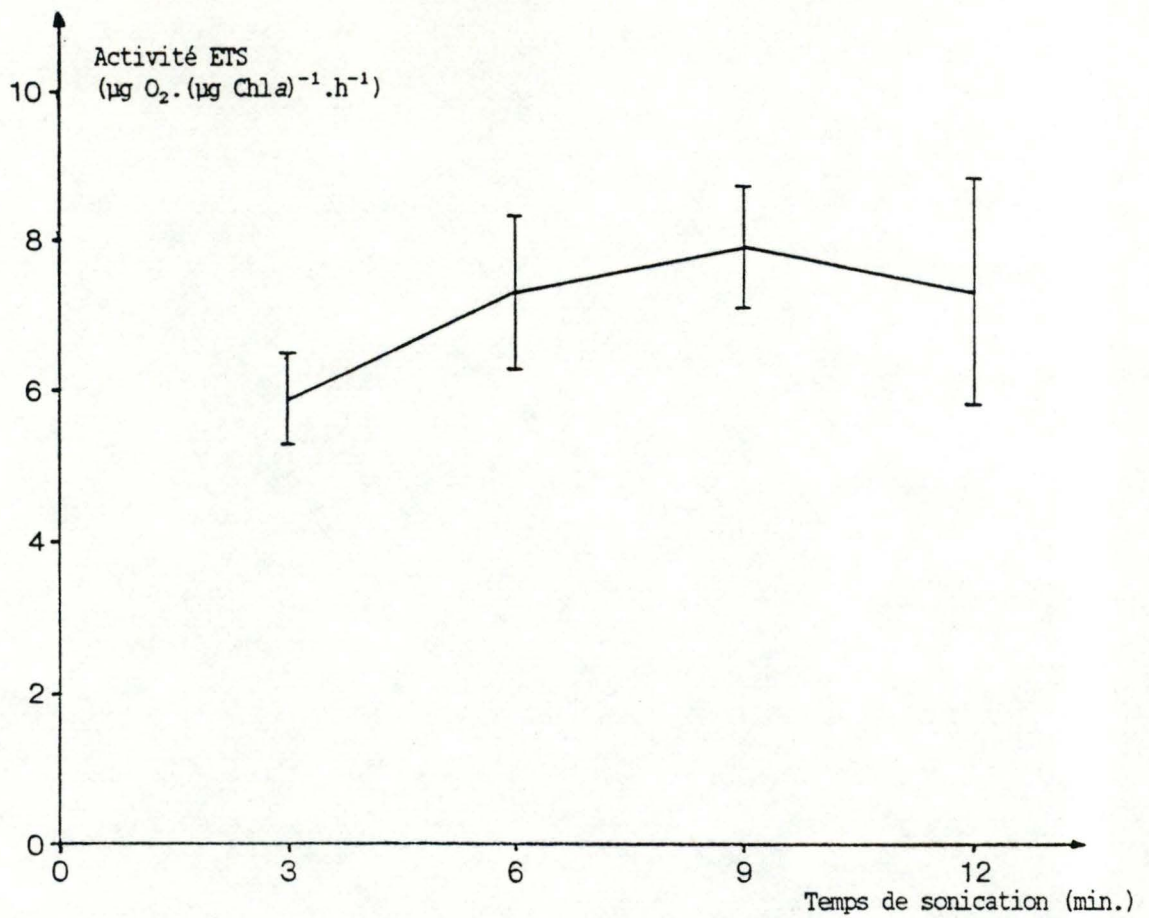


Fig.3.1 - Optimisation du temps de sonication pour *Dictyosphaerium ehrenbergianum*. Chaque point représente la moyenne de l'activité ETS ramenée à la Chla pour quatre échantillons incubés à même température (22.5 °C). L'écart-type est représenté selon la formule $2 \sigma/\sqrt{n}$.

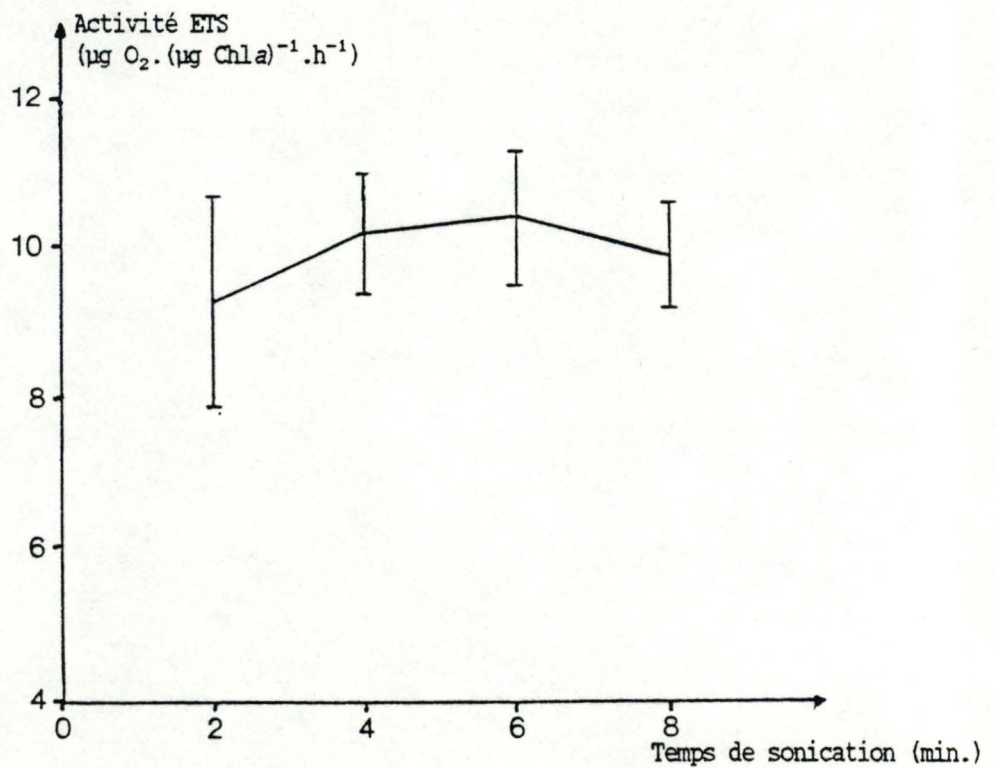


Fig.3.2 - Optimisation du temps de sonication pour *Cyclotella meneghiniana*. Chaque point représente la moyenne de l'activité ETS ramenée à la Chla pour quatre échantillons incubés à même température (20.5 °C). L'écart-type est représenté selon la formule $2 \sigma/\sqrt{n}$.

Tableau 3.4
OPTIMISATION DU TEMPS DE SONICATION POUR
ECHANTILLONS DE TERRAIN. LE 19 AVRIL 1988.

T° de terrain : 14°C - T° d'incubation : 14°C

Temps de sonication min	I	Temps de sonication min	II		III	
	Activ. ETS		Activ. ETS	% act.ETS maximale mesurée	Activ.ETS	% act.ETS maximale mesurée
	$\frac{\mu\text{g O}_2}{\mu\text{g Chl.a.l.h}}$		$\frac{\mu\text{g O}_2}{\mu\text{g Chl.a.l.h}}$		$\frac{\mu\text{g O}_2}{\mu\text{g Chl.a.l.h}}$	
2	3.27	0.5	4.59	96.2	3.68	93.2
4	2.75	1	4.77	100.0	3.50	88.6
6	2.75	2	4.69	98.3	3.77	95.4
8	2.41	3	4.69	98.3	3.95	100.0
10	2.49	4	3.85	80.7	3.50	88.6

Tableau 3.5
REPRODUCTIBILITE DU DOSAGE ETS POUR
ECHANTILLONS DE TERRAIN. LE 20 AVRIL 1988.

Temps de sonication : 3 min.

Echantill.	Activ. ETS
1	3.53
2	3.44
3	4.09
4	3.35
5	3.90

$$\bar{x} = 3.66$$

$$\sigma = 0.32$$

$$\text{C.V.} = 8.7\%$$

Tableau 3.6
OPTIMISATION DU TEMPS DE SONICATION POUR
ECHANTILLONS DE TERRAIN. LE 9 MAI 1988.

T° de terrain : 16°C - T° d'incubation : 16°C

Temps de sonicat° min	I		Temps de sonicat° min	II		III	
	Activ ETS	% act.ETS maximale mesurée		Activ ETS	% act.ETS maximale mesurée	Activ ETS	% act.ETS maximale mesurée
	$\frac{\mu\text{g O}_2}{\mu\text{g Chl}a.L.h}$			$\frac{\mu\text{g O}_2}{\mu\text{g Chl}a.L.h}$		$\frac{\mu\text{g O}_2}{\mu\text{g Chl}a.L.h}$	
2	4.08	87.7	2	5.05	100.0	5.22	100.0
4	4.65	100.0	3	5.05	100.0	5.05	96.7
6	4.08	87.7	4	4.70	89.9	3.94	74.1
8	4.27	91.8	5	4.71	93.3	4.80	91.7
10	4.27	91.8	6	4.63	91.7	4.80	91.7

Tableau 3.7
OPTIMISATION DU TEMPS DE SONICATION POUR
ECHANTILLONS DE TERRAIN. LE 10 MAI 1988.

T° de terrain : 16°C - T° d'incubation : 16°C

Temps de sonicat° min	I		II	
	Activ ETS	% act.ETS maximale mesurée	Activ ETS	% act.ETS maximale mesurée
	$\frac{\mu\text{g O}_2}{\mu\text{g Chl}a.L.h}$		$\frac{\mu\text{g O}_2}{\mu\text{g Chl}a.L.h}$	
2	1.23	23.0	1.62	29.6
3	5.12	96.2	3.97	93.2
4	5.32	100.0	4.26	100.0
5	3.28	61.7	4.26	100.0
6	4.71	88.5	4.07	95.5

Tableau 3.8
OPTIMISATION DU TEMPS DE SONICATION
POUR ECHANTILLONS DE TERRAIN
STATISTIQUES SUR LES POURCENTAGES (JOURNEES DU 9/5 ET DU 10/5).

Temps de sonicat° min	\bar{x} des pourcentages	σ	C.V.%
2	98.9	7.15	7.0
3	96.5	2.41	2.5
4	97.5	5.05	5.2
5	93.3	4.40	4.6
6	91.0	3.12	3.4

II. CARACTERISATION DU MILIEU

Le détail des résultats des mesures est présenté au tableau 3.9. Les principales observations sont résumées ci-après.

II.1. PARAMETRES CLIMATIQUES ET PHYSIQUES

II.1.1. Rayonnement solaire

Dans l'ensemble, nos campagnes de mesures ont été réalisées durant des journées relativement bien ensoleillées. Deux d'entre elles sortent cependant largement du lot : le 6 mai avec un PAR de $264,96 \text{ E.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ et le 15 juin avec un PAR de $267,83 \text{ E.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$. La journée du 7 juin quant à elle fut la plus couverte, avec un PAR de $77,95 \text{ E.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$.

II.1.2. Température

Tout au long de notre période d'observation, nous observons une augmentation croissante de la température jusqu'au 18 mai. Le 7 juin, on constate une chute de la température qui fait suite à une période prolongée de temps pluvieux et froid. Ensuite, nous retrouvons des températures élevées qui avoisinent les $19,5^{\circ}\text{C}$.

II.1.3. Débit

Nous observons une diminution relativement progressive du débit des eaux jusque début juin, période pendant laquelle il réaugmente quelque peu suite probablement aux quelques violents orages que nous avons connus durant le début du mois de juin. Dans le dernier tiers du mois de juin, on atteint des valeurs plus basses s'approchant de $70 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$.

II.1.4. Coefficient d'extinction (η) et matières en suspension (M.E.S.)

Le coefficient d'extinction est très variable tout au long de la période d'observation. Son évolution semble liée à la quantité de matières en suspension. On n'observe pas ici de relation entre la quantité de MES et le débit. Nous attirons toutefois l'attention sur le fait que des travaux de dragage ont lieu dans le tronçon directement en amont de la Meuse durant nos campagnes de mesures. Les dragueurs se trouvaient à environ 500 mètres de nos dernières mesures, ce qui peut peut-être expliquer les valeurs élevées de MES à la fin du mois de juin.

II.1.5. Conductivité

La conductivité présente une allure générale fort homogène, avoisinant les $400 \mu\text{S.cm}^{-1}$ (à 25°C).

II.2. PARAMETRES CHIMIQUES

II.2.1. Oxygène

Nous n'avons pas toujours titré nos bouteilles de Winkler le jour-même, de sorte que leur contenu s'est dégradé et que nous avons perdu un grand nombre de données. Les deux valeurs que nous avons indiquent une sursaturation de l'eau en oxygène. Ceci est en accord avec les données antérieures de pourcentage de saturation en O_2 de la Meuse qui montrent une bonne oxygénation de la Meuse avec une sursaturation fréquente en raison d'un bilan production-consommation généralement supérieur à l'unité et d'une réaération faible [BILLEN *et al.*, 1985; HENRIETTE, 1987].

II.2.2. Alcalinité (TAC) et pH

La Meuse présente des eaux alcalines avec un pH, pour la période d'observation, compris entre 7,75 et 8,5, où prédominent les bicarbonates. Ces données révèlent la présence d'une eau calcaire bien minéralisée, ce

qui paraît fort plausible si l'on considère les terrains drainés par le fleuve (essentiellement calcaires et schistes).

II.2.3. Nutriments

1. Azote (NO_3^- , NH_4^+ , NO_2^-)

Les teneurs en azote inorganique sont du même ordre de grandeur que celles rapportées par HENRIETTE (1987), avec des concentrations en nitrate toujours beaucoup plus importantes que les teneurs en nitrite et ammoniacque. Ceci est le fait d'une bonne oxygénation du milieu.

2. Orthophosphates et phosphore total

La teneur en orthophosphates semble influencée par la biomasse phytoplanctonique. Nous avons en effet observé la teneur en orthophosphates la plus élevée (0,042 mg/l P, le 7 juin) lorsque nous avons mesuré la concentration en Chla la plus faible (41,08 $\mu\text{g/l}$). Les valeurs relevées sont du même ordre de grandeur que celles relevées par HENRIETTE (1987). Quant au phosphore total, sa teneur de l'ordre de 0,1 mg/l P est le signe d'eaux de surface relativement polluées.

3. Silice

La silice est généralement considérée comme évoluant en raison inverse de la Chla lorsque la biomasse algale est dominée par des diatomées. On observe en effet une augmentation de la teneur en silice à partir du début du mois de juin, période pendant laquelle la communauté phytoplanctonique est composée d'un mélange d'algues vertes et de diatomées (voir III.).

II.3. PARAMETRES BIOLOGIQUES

II.3.1. Chl_a

On observe des concentrations relativement élevées tout au long de notre période d'étude. La biomasse maximale observée est de 153,45 µg Chl_a/l, valeur très élevée pour la Meuse, qui démontre en tout cas que son niveau d'eutrophisation ne s'améliore pas.

II.3.2. K_{max} et I_k

Les valeurs de K_{max} et I_k sont données ici à titre indicatif, sans entrer dans leur interprétation qui sort du cadre de ce mémoire.

Tableau 3.9
 ETUDE ECOLOGIQUE DE LA MEUSE
 STATION DE LA PLANTE

	28.04.88	30.04.88	02.05.88	04.05.88	06.05.88	09.05.88
TEMPERATURE (°C)	13.3	13.5	14.6	14.9	15.5	16.2
PH	7.97	7.97	7.9	7.75	7.95	8.06
ALCALINITE (meq/l)	2.94	2.84	2.86	3.18	3.16	3.24
OXYGENE (mg/l)	-	-	-	-	-	-
OXYGENE (% saturation)	-	-	-	-	-	-
CONDUCTIVITE ($\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C)	376	373	374	381	389	396
NITRATES (mg/l N)	2.61	2.53	2.39	2.2	2.15	1.99
NITRITES (mg/l N)	0.01	0.008	0.01	0.011	0.011	0.013
AMMONIAQUE (mg/l N)	0	0.038	0.033	0.038	0.038	0
P DISSOUS (mg/l P)	0.03	0.02	0.03	0.02	0.03	0.03
P TOTAL (mg/l P)	-	-	-	-	-	-
SILICE (mg/l Si)	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01
C.O.D. (mg/l)	2.94	3.36	4.5	3.27	2.8	-
M.E.S. (mg/l)	18.9	21.3	15.5	21.7	14.7	17.2
ETA (m^{-1})	2.74	3.64	1.85	2.56	1.93	1.63
CHL.a ($\mu\text{g}/\text{l}$)	120	121.8	92.7	81.2	82.17	76.37
DEBIT (m^3/s)	140	145	127	127	125	115
PAR jour ($\text{E}/\text{m}^2/\text{j}$)	156.95	178.97	142.58	114.14	264.96	126.59
Pmax ($\text{mg C}/\text{m}^3/\text{h}$)	437.04	371.98	310.36	301.5	358.18	193.22
Kmax ($\text{mg C}/\text{mg chl.a}/\text{h}$)	3.642	3.054	3.348	3.713	4.359	2.53
Ik ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	194.99	142.24	254.21	220.3	193.84	324.6
PRODUCTION JOURNALIERE ($\text{g C}/\text{m}^2/\text{j}$)	3.775	2.907	3.18	2.229	5.692	1.852

	18.05.88	07.06.88	15.06.88	23.06.88	29.06.88
TEMPERATURE (°C)	19.3	15.2	19.5	19.7	19.5
PH	8.29	8.09	8.54	8.41	8.24
ALCALINITE (meq/l)	3	3.12	2.72	3.28	3.38
OXYGENE (mg/l)	10.14	11.77	-	-	15.38
OXYGENE (% saturation)	111.67	119.43	-	-	156.07
CONDUCTIVITE ($\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C)	380	392	364	411	461
NITRATES (mg/l N)	1.88	2.47	1.58	1.72	2.04
NITRITES (mg/l N)	0.015	0.017	0.012	0.019	0.025
AMMONIAQUE (mg/l N)	0	0.06	0.04	0.06	0.04
P DISSOUS (mg/l P)	0.03	0.042	0.008	0.017	0.075
P TOTAL (mg/l P)	-	0.12	0.062	0.17	0.134
SILICE (mg/l Si)	0.01	0.2	0.02	0.02	0.06
C.O.D. (mg/l)	-	-	-	-	-
M.E.S. (mg/l)	22.9	34.4	53.8	49.7	40.4
ETA (m^{-1})	3.15	3.14	3.59	3.39	2.84
CHL.a ($\mu\text{g}/\text{l}$)	107.5	41.08	153.45	104.3	56.79
DEBIT (m^3/s)	108	112	110	76	72
PAR jour ($\text{E}/\text{m}^2/\text{j}$)	120.18	77.95	267.83	136.07	185.96
Pmax ($\text{mg C}/\text{m}^3/\text{h}$)	332.61	163.83	681.16	471.96	231.02
Kmax ($\text{mg C}/\text{mg chl.a}/\text{h}$)	3.094	3.988	4.439	4.525	4.068
Ik ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	294.22	93.77	188.8	161.59	142.81
PRODUCTION JOURNALIERE ($\text{g C}/\text{m}^2/\text{j}$)	1.679	1.362	5.903	3.918	2.46

III. EVOLUTION DE LA COMPOSITION DU PHYTOPLANCTON

Nous avons procédé à une observation microscopique rapide afin de déterminer les principales espèces présentes ainsi que les dominances. Une synthèse des observations est présentée au tableau 3.10.

La fin du mois d'avril est caractérisée par une abondance très marquée d'une diatomée centrique, *Stephanodiscus hantzschii* largement dominante. Il s'agit en fait d'un taxon comprenant plusieurs espèces n'étant pas toutes identifiables au microscope optique : *S. hantzschii*, *S. tenuis*, *S. perforatus*,... On rencontre également assez fréquemment les diatomées pennées *Nitzschia acicularis* et *Synedra ulna*. Outre ces trois espèces, la diversité spécifique est très faible et l'on ne rencontre quasiment pas de Chlorococcales; nous avons affaire à une communauté phytoplanctonique homogène.

Au début du mois de mai, nous observons une légère diminution de l'abondance de *Stephanodiscus hantzschii*, qui reste toutefois l'espèce dominante. On trouve également en abondance de très petites centriques appartenant aux deux genres, *Cyclotella* et *Thalassiosira*, comprenant sans doute *Thalassiosira pseudonana* et des formes peu silicifiées de *Cyclotella*, dont *C. pseudostelligera*. La diversité en espèces augmente et l'on voit apparaître quelques espèces de Chlorococcales.

Le 9 mai, on constate une dominance de *Dictyosphaerium* spp., tandis que les *Stephanodiscus hantzschii* sont en régression. En outre, la diversité de Chlorococcales s'accroît.

Par la suite, on retrouve une prédominance de *Stephanodiscus hantzschii*, mais avec une très forte diversité d'espèces, autant diatomées que Chlorococcales. Il est intéressant de noter que ce sont essentiellement de petites diatomées centriques (de diamètre égal ou inférieur à 10 μm) qui sont fortement abondantes, ainsi que la présence de *Thalassiosira weissflogii*.

Tableau 3.10

COMPOSITION DU PHYTOPLANCTON DURANT LES CAMPAGNES DE MESURES EN MEUSE
S'ETALANT DU 28/04/88 AU 29/06/88 (STATION DE LA PLANTE).

	28/4	30/4	2/5	4/5	6/5	9/5	18/5	7/6	15/6	23/6	29/6
<u>CHLOROPHYTES</u>											
<i>Dictyosphaerium ehrenbergianum</i>					X		XX	X	X	X	XX
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	X	X	X	X		XXX					
<i>Scenedesmus acuminatus</i>				X				X	X	XX	XX
Diversité des Chlorococcales		+	++	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
<u>DIATOMEES</u>											
<i>Asterionella formosa</i>	X			X	XX	X		X		X	
<i>Cyclostephanos dubius</i>						X				XX	X
<i>Cyclotella atomus</i>					X			X	X	XX	XX
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	X		X	X	X	X	XX	X	X	X	XX
<i>Cyclotella pseudostelligera</i>	X	X	X	X	XX	XX	X	XX	XX	XXX	XX
<i>Cyclotella - Thalassiosira</i> (petites)			XXX		XXX						
<i>Nitzschia acicularis</i>	XX	X	X	XX	XX	X		X	X		X
<i>Nitzschia fruticosa</i>									XX		
<i>Stephanodiscus hantzschii</i> (et <i>S.tenuis</i>)	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX
<i>Synedra ulna</i>	XX	XX	XX	X	X	X					
<i>Thalassiosira weissflogii</i>								X	X	X	X

X présent
XX abondant
XXX dominant

+ faible diversité
++ diversité moyenne
+++ forte diversité

IV. ACTIVITE RESPIRATOIRE

IV.1. RESULTATS

Les résultats des mesures réalisées entre le 28 avril et le 29 juin 1988 sur des échantillons de phytoplancton de la Meuse à la Plante sont présentés au tableau 3.11.

L'activité respiratoire (R) a été calculée sur la base d'un rapport R/ETS de 0,17. Elle est exprimée de différentes façons :

- en mg O₂/l/h (R)
- en mg C/l/h (RC), en se basant sur un QR = 1
- par rapport à l'unité de biomasse (RCHLa), en mg O₂/mg Chla/h
- en mg C/m²/j, en estimant que la respiration est constante sur 24 h, pour une colonne d'eau d'une profondeur moyenne de 3,5 m (profondeur sur laquelle est également intégrée la production)
- en j⁻¹ : c'est le taux respiratoire journalier (TR) obtenu par division de la respiration journalière par la biomasse estimée à partir de la Chla en utilisant un rapport C/Chla égal à 35 [SERVAIS, 1987].

On trouve également dans ce tableau les valeurs du taux de production brute (TP), calculé à partir des mesures au ¹⁴C, en considérant que celles-ci constituent une approximation de la production brute. Cette interprétation des mesures au ¹⁴C est basée sur HARRIS (1986, p 119-122), qui considère que l'assimilation du ¹⁴C pendant des périodes d'incubation relativement courtes (inférieures à 4 h) par des algues dont le taux de croissance est proche de leur taux maximal (μ_{\max}), représente la production brute. Ainsi, les substrats récemment fixés par photosynthèse ne seraient pas respirés immédiatement par des cellules algales non carencées en nutriments (ce qui semble bien être le cas dans la Meuse). Dès lors, le taux de production nette (TPN), servant à estimer le taux de croissance exponentiel (TC), se calcule par différence entre TP et TR.

IV.2. INTERPRETATION

Dans un premier temps, nous avons cherché à voir si nos résultats de respiration étaient corrélés à la température. Nous espérons ainsi déterminer le Q_{10} le plus approprié pour la respiration dans la Haute Meuse. Dans un second temps, nous avons comparé nos résultats aux estimations de respiration calculées selon les deux méthodes généralement utilisées, en fonction de l'activité photosynthétique d'une part, en fonction de la concentration en Chl a et de la température d'autre part [BILLEN *et al.*, 1987]. Nous pouvons ainsi discuter de l'adéquation des modèles utilisés et éventuellement leur proposer une nouvelle formulation.

IV.2.1. Relation taux respiratoire - température

La figure 3.3 présente le graphe du logarithme népérien de la respiration, exprimée en $\text{mg O}_2 \cdot (\text{mg Chl}a)^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, en fonction de la température en °C. Nous constatons une grande dispersion des points. Toutefois, si l'on ne considère que les points correspondants aux dates comprises entre le 28 avril et le 9 mai, on peut trouver une certaine évolution linéaire de la respiration en fonction d'une augmentation de température. Or l'examen microscopique des échantillons nous révèle que cette période correspond (hormis pour le 9 mai où cela paraît moins clair) à une communauté phytoplanctonique à forte dominance de diatomées et même presque exclusivement composée de *Stephanodiscus* du groupe "*hantzschii*" au début, puis avec une légère progression de Chlorococcales et Cryptophycées. La valeur du 9 mai correspond cependant à une dominance de *Dictyosphaerium*, bien que les *Stephanodiscus* soient encore abondants. Par la suite, nous observons une composition algale beaucoup plus variée en espèces. Ceci nous incite à supposer qu'une population physiologiquement homogène peut présenter une relation respiration - température à allure linéaire, mais qu'il n'existe pas de relation constante de la respiration avec la température lorsqu'on considère l'ensemble des communautés phytoplanctoniques.

Nous nous sommes servis des points compris entre le 28 avril et le 9 mai pour déterminer le Q_{10} de la relation. Par régression, nous trouvons une valeur de Q_{10} égale à 2,185. Nous insistons sur le fait que cette

valeur n'est peut-être pas constante tout au long de l'année mais, qu'en première approximation, nous avons choisi de l'appliquer plutôt que la valeur de 2,0 utilisée par BILLEN *et al.*, (1987) dans le modèle écologique de Haute Meuse.

IV.2.2. Comparaison des mesures de respiration avec les estimations généralement proposées

1. Estimation de la respiration via la valeur de P_{\max} (tableau 3.12)

Comme nous l'avons déjà signalé, la respiration est généralement considérée comme une fraction constante de la production brute. Une estimation couramment utilisée dans les modèles de croissance phytoplantonique est

$$\hat{R} = 0,1 P_{\max} \quad (1.1)$$

où \hat{R} et P_{\max} s'expriment en $\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

P_{\max} étant le taux photosynthétique maximal en lumière saturante.

Si l'on compare les mesures de respiration obtenues à partir de l'activité ETS et en considérant un rapport R/ETS de 0,17, et les valeurs de respiration estimée, nous constatons que ces dernières représentent une large surestimation de la respiration.

Nous avons calculé une nouvelle valeur pour la constante qui multiplie P_{\max} au moyen des valeurs de respiration calculées à partir de l'activité ETS. Nous obtenons une valeur moyenne du rapport R/P_{\max} de 0,06 avec un coefficient de variation de 26,8%. Il est intéressant de constater que la valeur du rapport R/P_{\max} reste quasiment constante jusqu'au 6 mai. Ensuite, la variabilité augmente. La valeur du 9 mai semble aberrante. Comme pour la relation à la température, nous pouvons supposer une relation plus constante à P_{\max} lorsqu'il s'agit d'une communauté physiologiquement homogène.

2. Estimation de la respiration via la valeur de Chla et la température (tableau 3.13)

L'estimation de respiration adoptée dans le modèle de l'écosystème de Haute Meuse [BILLEN *et al.*, 1987] est de la forme suivante :

$$\hat{R} = 0,6 \cdot Q_{10}^{\frac{T-20}{10}} \quad (2.1)$$

où \hat{R} est exprimé en $\text{mg O}_2 \cdot (\text{mg Chla})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

0,6 est un coefficient estimé en supposant que la respiration du phytoplancton représente 50% de la respiration totale mesurée à partir d'incubations d'échantillons d'eau dans des bouteilles sombres et est exprimée en $\text{mg O}_2 \cdot (\text{mg Chla})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Il représente la respiration du phytoplancton à 20°C.

Q_{10} est pris égal à 2,0

T est la température du milieu en °C.

Nos calculs utilisent la valeur de température d'incubation afin d'être comparables aux valeurs de R calculées à partir de l'activité ETS. Cette température est égale ou fort proche (au maximum $\pm 1^\circ\text{C}$) de la température in situ.

On constate à nouveau de fortes différences, dans le sens d'une sous-estimation, de la respiration par rapport aux valeurs calculées à partir de l'activité ETS.

Comme pour le modèle précédent, nous avons recalculé la constante. Pour ce faire, nous avons utilisé la valeur de Q_{10} déterminée par régression sur les valeurs de taux respiratoire de la période du 28 avril au 9 mai et égale à 2,2. Nous obtenons alors une respiration à 20°C, à partir de la formule ci-dessus, égale à $0,9 \text{ mg O}_2 \cdot (\text{mg Chla})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

3. Discussion :

A la lumière des données de respiration obtenues à partir du dosage ETS, nous pouvons discuter de l'adéquation des modèles de Haute Meuse [BILLEN *et al.*, 1987].

La sous-estimation de la respiration introduite dans le modèle "Haute Meuse" pourra avoir une conséquence importante sur le taux de grazing estimé par le modèle. En effet, celui-ci est établi à partir d'équations de conservation. Ainsi, puisque le taux de respiration apparaît comme supérieur à ce qui était prévu par le modèle, il est probable que le taux de grazing soit pour sa part moins important que ce qui était estimé. Des mesures ultérieures de ce paramètre de disparition (seul avec la respiration à pouvoir être mesuré) pourront corroborer nos résultats.

Afin de discuter de l'opportunité des deux types d'estimation de R, considérons maintenant l'erreur relative des valeurs de respiration estimées selon les deux méthodes (réajustées), par rapport aux valeurs de respiration mesurées. Pour l'estimation via P_{\max} , nous constatons des valeurs d'erreur relative plus faibles pour les cinq premières mesures, correspondant semble-t-il à une communauté physiologiquement homogène. Par contre, par la suite, l'erreur relative s'accroît et présente une forte variabilité. Dans le cas de l'estimation via la Chla et la température, l'erreur relative paraît confinée dans une gamme de valeurs plus étroites, montrant une différence moins nette entre deux "périodes" distinctes. La moyenne des erreurs relatives est quasiment la même dans les deux cas et tourne autour de 20% (20,3 et 19,9), mais le coefficient de variation est deux fois plus élevé en ce qui concerne l'estimation via P_{\max} (102% contre 52%). De ceci il ressort donc que dans le cas d'une population homogène l'estimation via P_{\max} semble plus précise. Toutefois, dans le cas d'une application sur un cycle annuel complet, nous conseillerons plutôt l'estimation via la Chla et la température, bien que celle-ci reste encore fort approximative

IV.2.3. Evolution des rapports P/R et de la P_N

Possédant des valeurs mesurées de respiration, nous pouvons calculer les rapports P/R de manière plus précise, ainsi que la P_N . Nous avons considéré pour ce faire un taux de respiration constant sur 24h et nous avons estimé que le ^{14}C donne une P_B , ce qui semble acceptable puisque nos incubations n'ont jamais dépassé 4h30. Nous insistons sur le fait qu'il reste beaucoup d'imprécisions sur notre calcul de respiration; dès lors les rapports P/R et les taux de P_N que nous proposons doivent être pris à titre indicatif de ce à quoi une étude plus approfondie de la respiration phytoplanctonique in situ pourra conduire comme interprétation.

Pour illustrer l'intérêt de ce type d'approche, nous présentons quatre exemples de simulations de P et R, dans des situations caractéristiques (fig.3.4 à 3.7). L'évolution de l'activité photosynthétique journalière peut être reproduite par une simulation basée sur un modèle du type Vollenweider (voir équation (1), 2^e partie VI.5), où les valeurs de P_{\max} et de I_K sont celles qui ont été déterminées par nos incubations in situ. Grâce à la relation photosynthèse - lumière ainsi fixée pour un jour donné, l'activité photosynthétique intégrée sur la colonne d'eau (exprimée en $\text{mg O}_2 \cdot \text{m}^{-2}$) est calculée par pas de temps d'une demi-heure à partir des valeurs d'irradiance obtenues à l'IRM (Station de S^t Hubert). Dans les figures, l'intensité IRM est exprimée en PAR moyennée sur une demi-heure (en $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) et les valeurs de P_B et de R sont exprimées en $\text{mg O}_2 \cdot \text{m}^{-2}$, intégrés sur une demi-heure. La P_N est représentée par la fraction située au-dessus de la ligne de respiration. On peut ainsi visualiser l'information apportée par des rapports P/R variables et voir les activités métaboliques et - donc le taux de croissance - du phytoplancton.

Le 6 mai (fig. 3.4)

Nous observons une P_B très élevée alors que la respiration est relativement importante. Ainsi, grâce à une intensité lumineuse totale très forte, et malgré une forte activité respiratoire, nous constatons un rapport P/R largement bénéficiaire avec une valeur de 2,72.

Le graphique nous montre qu'à cette journée sans nuages, correspond une P_B sur la colonne d'eau sans photoinhibition marquée, mais avec une saturation nette à environ $800 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Une certaine photoinhibition peut se produire dans les couches superficielles mais, après intégration sur la colonne d'eau, cet effet apparaît insignifiant.

Le taux de croissance est le plus élevé de nos campagnes : $0,31 \text{ j}^{-1}$, ce qui correspond à un temps de doublement de la biomasse phytoplanctonique, en conditions constantes et sans tenir compte des termes de disparition, égal à 2,2 j. En effet, la relation du temps de doublement (p) avec le taux de croissance (μ) est la suivante :

$$2^p = e^{\mu} \quad \text{d'où} \quad \mu = \ln 2/p$$

ou

$$p = \ln 2/\mu$$

La P_N semble avant tout déterminée par la valeur de l'intensité lumineuse et n'est pas limitée par une photoinhibition dans la colonne d'eau. Elle est relativement favorable avec une valeur de biomasse moyenne pour cette période ($82,2 \mu\text{g Chla.l}^{-1}$)

Le 18 mai (fig. 3.5)

A la biomasse élevée de cette journée ($107,5 \mu\text{g Chla/l}$) correspond une forte activité respiratoire et une transparence de l'eau réduite. De plus, l'intensité lumineuse totale est relativement faible et la journée est fort nuageuse (aspect très découpé du tracé d'IL); à cela correspond une P_B également relativement faible dont la variation au cours de la journée suit la variation d'IL. De ce fait, nous obtenons un rapport P/R inférieur à 1 (0,71) indiquant une consommation de C qui n'est pas comblée par la production.

On est ainsi en présence d'une situation critique apparaissant dans les eaux eutrophisées : la biomasse est élevée, résultant d'une croissance favorisée par une bonne illumination les jours précédents; si l'intensité lumineuse est faible, combinée à une faible transparence de l'eau, on obtient un rapport P/R inférieur à 1. En conséquence, le bilan oxygène de la colonne d'eau est défavorable si la réaération est peu effective, ce qui est le cas en Meuse. Quant au phytoplancton, son maintien ou sa croissance doivent être assurés par ses réserves intracellulaires puisque sa P_N est négative.

Le 7 juin (fig. 3.6)

Nous avons affaire ici à une IL très faible, mais également à une biomasse relativement basse. La P_B et la respiration sont toutes deux très faibles, mais le rapport P/R reste élevé, assurant un taux de croissance relativement élevé. La situation est cependant moins défavorable que le 18 mai, du fait que la biomasse phytoplanctonique est relativement basse : la transparence de l'eau est meilleure, et l'intensité disponible dans la colonne d'eau permet de maintenir un taux de production suffisant pour compenser largement les pertes par respiration.

Le 15 juin (fig. 3.7)

Nous avons choisi ce cas en raison de la forte biomasse phytoplanctonique présente à ce moment, combinée à une température

relativement élevée. L'activité respiratoire du phytoplancton par unité de volume est maximale (près de $0,1 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Cependant un rapport P/R proche de 2 se maintient, grâce à une très forte irradiance en surface, qui doit entraîner pendant une bonne partie de la journée une sursaturation en oxygène dans la colonne d'eau. On peut constater que la croissance de cette biomasse phytoplanctonique, exceptionnelle pour la Meuse, est susceptible de se poursuivre si elle n'est pas limitée par la disponibilité en nutriments ou le grazing.

Tableau 3.11

RESULTATS DES MESURES DE RESPIRATION ET DE PRODUCTION

DATE	Chla µg/l	T° °C	R mg O ₂ /l	RC mg C/l	RCHLa $\frac{\text{mg O}_2}{\text{mg Chla} \cdot \text{h}}$	TRC j ⁻¹	RJ g C/m ² /j	PJ g C/m ² /j	P/R	TPB j ⁻¹	TPN j ⁻¹	TC j ⁻¹
28.04.88	120	12.5	0.074	0.028	0.617	0.16	2.34	3.775	1.61	0.26	0.10	0.09
30.04.88	121.8	13.0	0.073	0.027	0.599	0.15	2.30	2.907	1.26	0.19	0.04	0.04
02.05.88	92.7	14.0	0.062	0.023	0.669	0.17	1.94	3.180	1.64	0.28	0.11	0.10
04.05.88	81.2	15.0	0.057	0.021	0.702	0.18	1.78	2.229	1.25	0.22	0.04	0.04
06.05.88	82.2	15.5	0.066	0.025	0.803	0.21	2.09	5.692	2.72	0.57	0.36	0.31
09.05.88	76.4	16.0	0.059	0.022	0.773	0.20	1.87	1.852	0.99	0.20	0.00	0.00
18.05.88	107.5	19.0	0.075	0.028	0.698	0.18	2.38	1.679	0.71	0.13	-0.05	-0.05
07.06.88	41.1	15.0	0.020	0.008	0.487	0.13	0.63	1.362	2.16	0.27	0.15	0.14
15.06.88	153.5	19.5	0.099	0.037	0.645	0.17	3.13	5.903	1.89	0.31	0.15	0.14
23.06.88	104.3	20.0	0.068	0.026	0.652	0.17	2.16	3.918	1.81	0.31	0.14	0.13
29.06.88	56.8	19.5	0.048	0.018	0.845	0.22	1.51	2.460	1.63	0.35	0.14	0.13

R : respiration exprimée en oxygène

RC : respiration exprimée en carbone

RCHLa : taux respiratoire exprimé par rapport à la chla

TRC : taux respiratoire exprimé par rapport au carbone

RJ : respiration journalière

PJ : production journalière

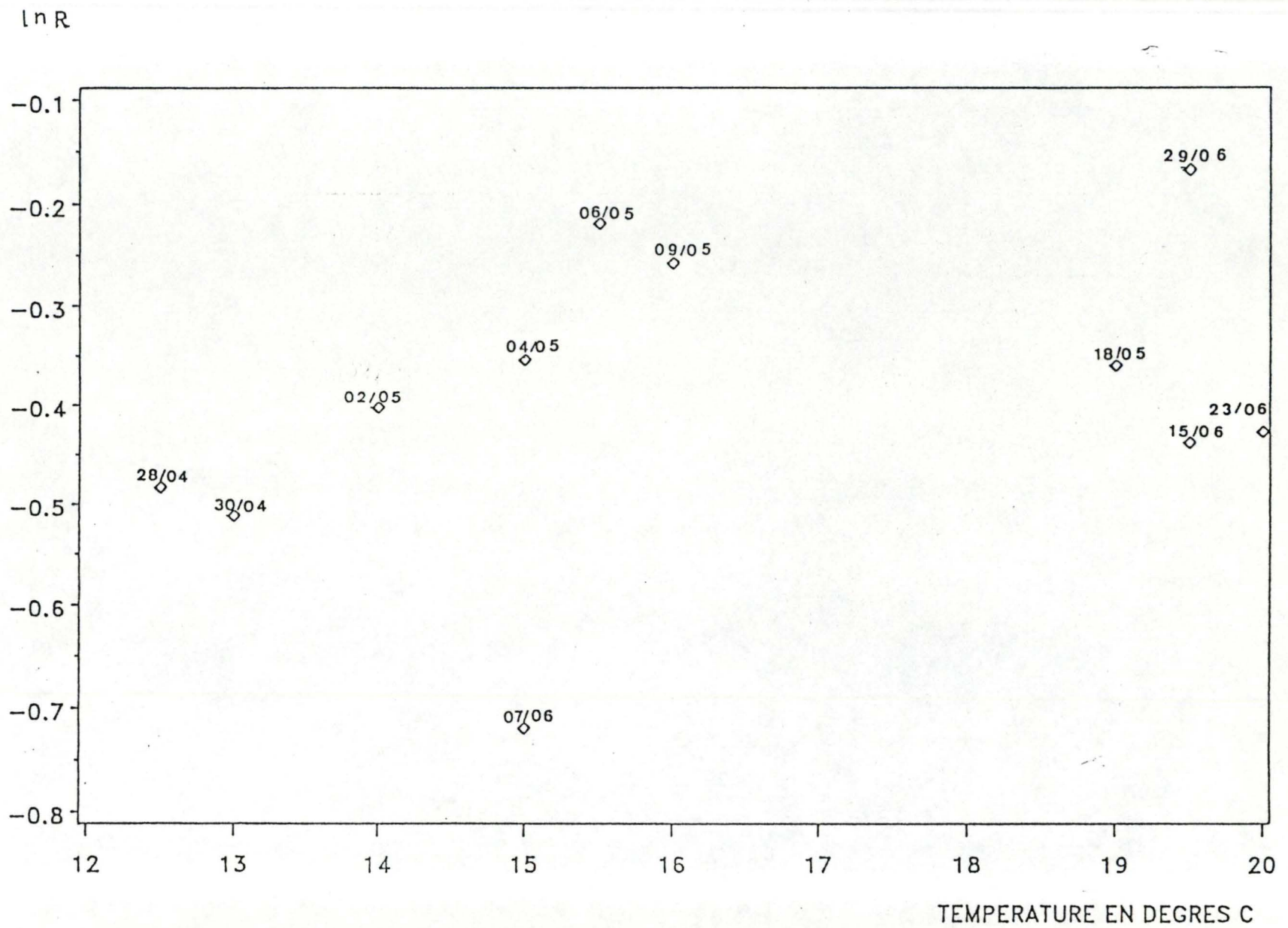
TPB : taux de production brute

TPN : taux de production nette

TPC : taux de croissance exponentielle

RELATION RESPIRATION-TEMPERATURE

Fig.3.3 - Relation Respiration - Température pour les campagnes de mesures en Meuse s'étendant du 28 avril au 29 juin 1988 (station de La Plante).



ln R = ln de l'activité en mgO₂/mgchl_a/h

Tableau 3.12
ESTIMATION DE LA RESPIRATION VIA LA VALEUR DE P_{\max}

DATE	$P_{\max}(C)$ mg C/l/h	$P_{\max}(O_2)$ mg O ₂ /l/h	$\hat{R}(1.1)^*$ mg O ₂ /l/h	R mg O ₂ /l/h	R/ P_{\max}	$\hat{R}(1.2)^{\#}$ mg O ₂ /l/h	Erreur rel.(%)
28.04.88	0.437	1.457	0.146	0.074	0.051	0.087	17.6
30.04.88	0.372	1.240	0.124	0.073	0.059	0.074	1.4
02.05.88	0.310	1.033	0.103	0.062	0.060	0.062	0.0
04.05.88	0.290	0.967	0.097	0.057	0.059	0.060	5.3
06.05.88	0.358	1.193	0.119	0.066	0.055	0.072	9.1
09.05.88	0.189	0.630	0.063	0.059	0.094	0.039	33.9
18.05.88	0.333	1.110	0.111	0.075	0.068	0.067	10.7
07.06.88	0.164	0.547	0.055	0.020	0.037	0.033	65.0
15.06.88	0.687	2.290	0.229	0.099	0.043	0.136	37.4
23.06.88	0.472	1.573	0.157	0.068	0.043	0.094	38.2
29.06.88	0.231	0.770	0.077	0.048	0.062	0.046	4.2
					$\bar{x}=0.057$ CV=26.8%		$\bar{x}=20.3$ CV=102%

* Respiration estimée avec coefficient 0.1

Respiration estimée avec coefficient 0.06 (moyenne de R/ P_{\max})

Tableau 3.13
ESTIMATION DE LA RESPIRATION VIA LA VALEUR DE CHLa ET LA T°

DATE	CHLa mg/l	T°* °C	$\hat{R}(2.1)^{\#}$ mg O ₂ /l/h	R mg O ₂ /l/h	R à 20°C $\frac{mg\ O_2}{mg\ CHLa \cdot h}$	$\hat{R}(2.2)^{\text{e}}$ mg O ₂ /l/h	Erreur rel.(%)
28.04.88	0.120	12.5	0.045	0.074	1.120	0.060	18.9
30.04.88	0.122	13.0	0.047	0.073	1.042	0.064	12.3
02.05.88	0.093	14.0	0.038	0.062	1.075	0.052	16.1
04.05.88	0.081	15.0	0.034	0.057	0.845	0.050	12.3
06.05.88	0.082	15.5	0.036	0.066	1.141	0.052	21.2
09.05.88	0.076	16.0	0.035	0.059	1.124	0.051	13.6
18.05.88	0.108	19.0	0.062	0.075	0.660	0.090	20.0
07.06.88	0.041	15.0	0.018	0.020	0.727	0.025	25.0
15.06.88	0.153	19.0	0.089	0.099	0.703	0.134	35.4
23.06.88	0.104	20.0	0.061	0.068	0.660	0.095	39.7
29.06.88	0.057	19.5	0.033	0.048	0.884	0.050	4.2
					$\bar{x}=0.907$ CV=21.9%		$\bar{x}=19.9$ CV=52%

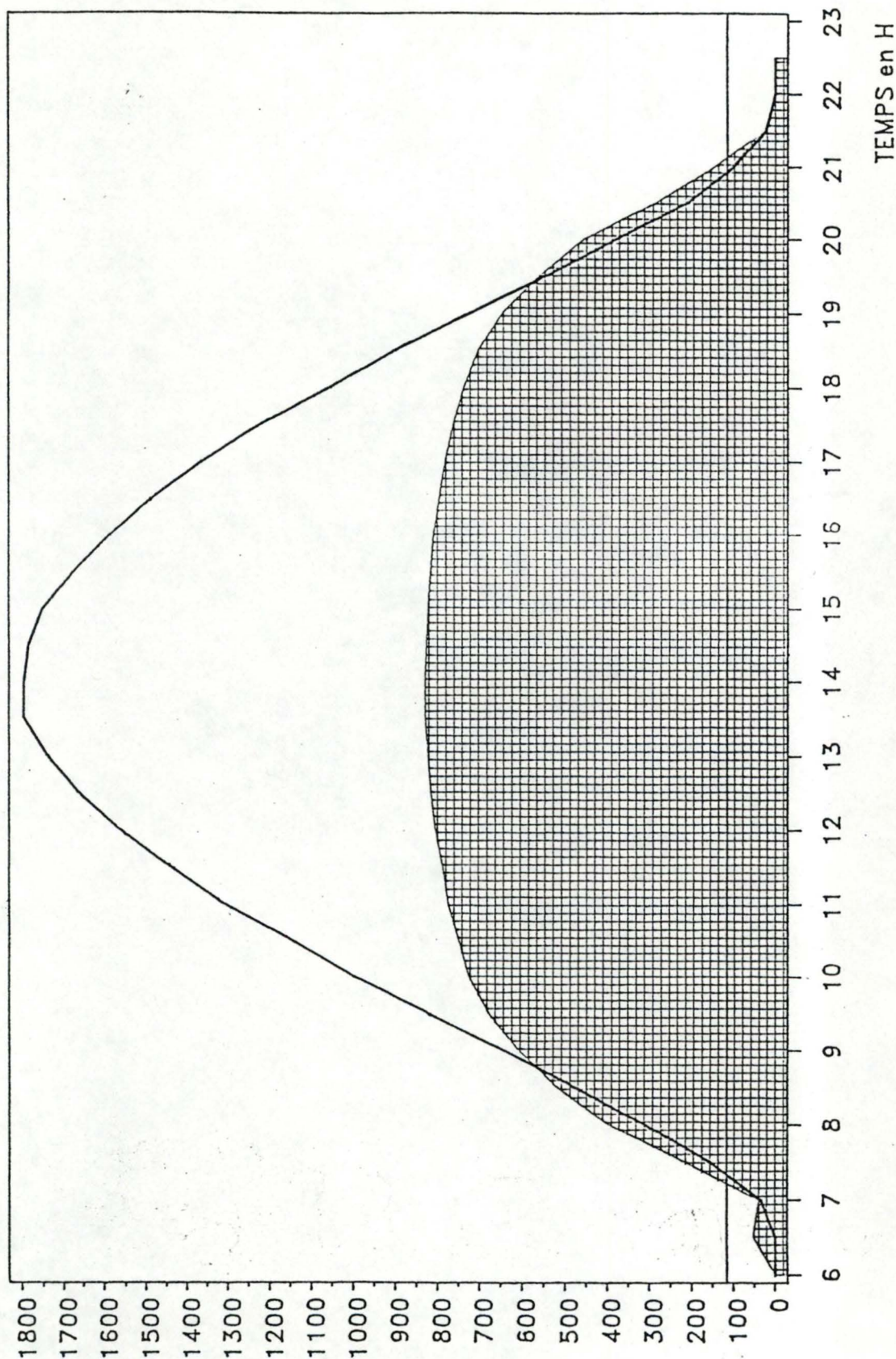
* Température d'incubation

Respiration estimée selon BILLEN *et al.* (1985)

e Respiration estimée avec un Q₁₀ de 2.2 et un coefficient de 0.9

EVOLUTION DES ACTIVITES LE 06/05/88

IL en $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$
 P en $\text{mgO}_2/\text{m}^2/0.5\text{h}$

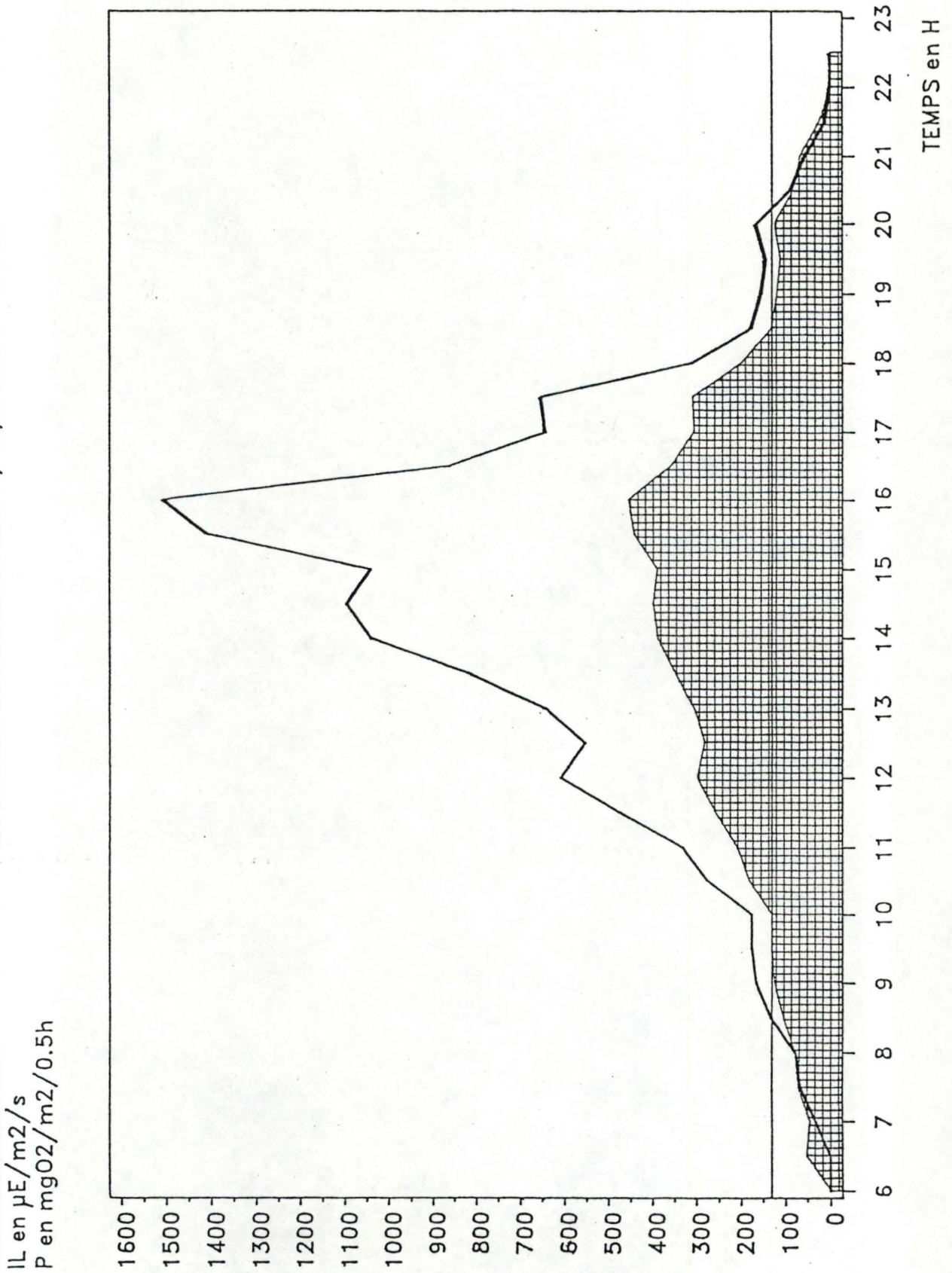


trait horizontal=respiration $P/R=2.72$ CHLa=82.2 Temperature=15.5

Fig.3.4 - Simulation de P et R pour la journée du 6 mai 1988.

La courbe en trait épais représente l'intensité lumineuse (PAR) en $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; la partie quadrillée représente la P_n et le trait horizontal la respiration, toutes deux en $\text{mg O}_2\cdot\text{m}^{-2}$ et intégrées sur une demi-heure. La P_n est représentée par la portion au-dessus de la ligne de respiration. En note, sont repris le rapport P/R, la teneur en Chla en $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ et la température de l'eau (in situ) en $^{\circ}\text{C}$.

EVOLUTION DES ACTIVITES LE 18/05/88

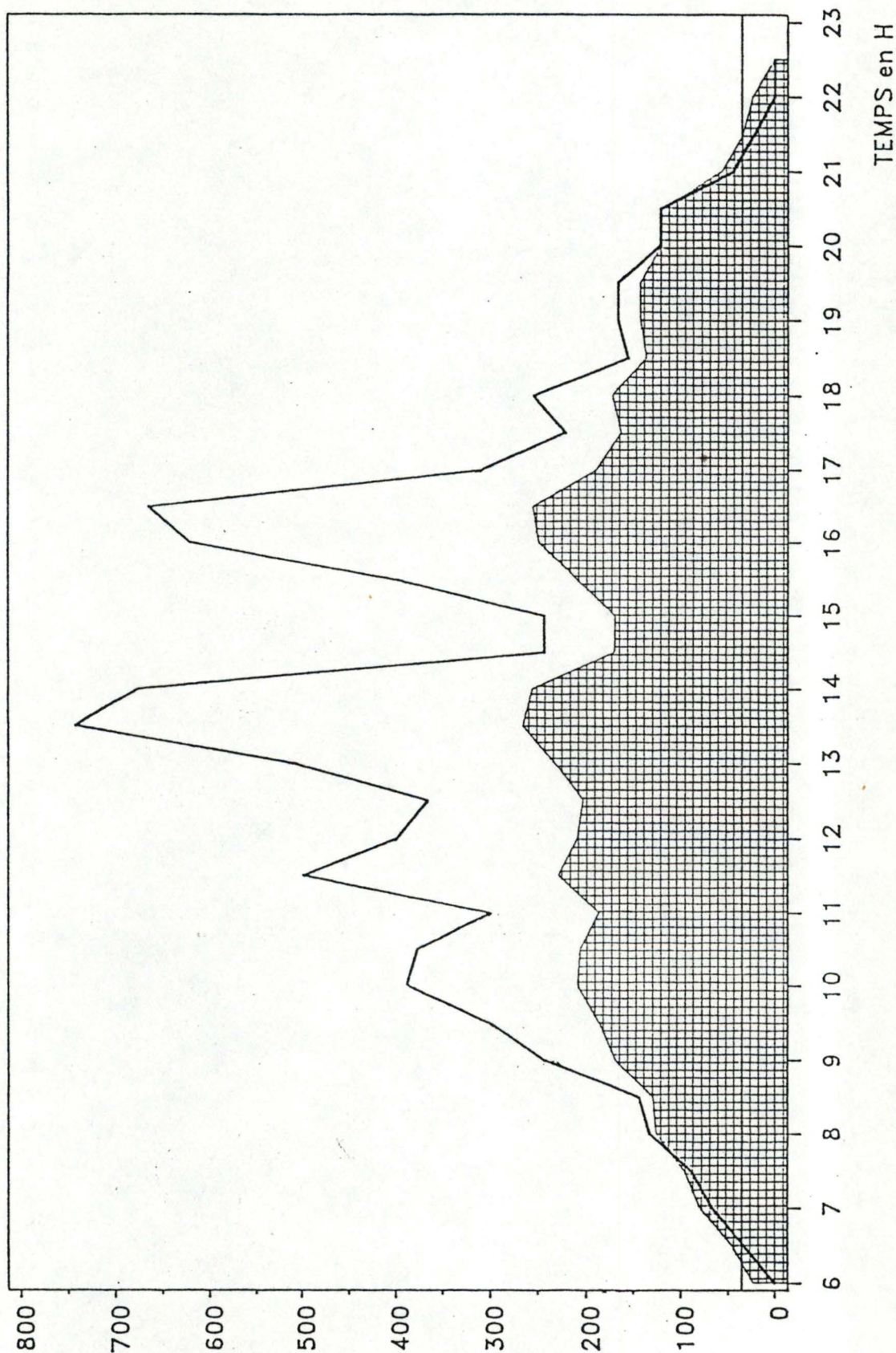


trait horizontal=respiration P/R=0.71 CHLa=107.5 Temperature=19.3

Fig.3.5 - Simulation de P et R pour la journée du 18 mai 1988.
 La courbe en trait épais représente l'intensité lumineuse (PAR) en $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$; la partie quadrillée représente la P_p et le trait horizontal la respiration, toutes deux en $mg O_2.m^{-2}$ et intégrées sur une demi-heure. La P_n est représentée par la portion au-dessus de la ligne de respiration. En note, sont repris le rapport P/R, la teneur en Chla en $\mu g.l^{-1}$ et la température de l'eau (in situ) en $^{\circ}C$.

EVOLUTION DES ACTIVITES LE 07/06/88

IL en $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$
 P en $\text{mgO}_2/\text{m}^2/0.5\text{h}$



trait horizontal=respiration P/R=2.16 CHLa=41.1 Temperature=15.2

Fig.3.6 - Simulation de P et R pour la journée du 7 juin 1988.

La courbe en trait épais représente l'intensité lumineuse (PAR) en $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; la partie quadrillée représente la P_b et le trait horizontal la respiration, toutes deux en $\text{mg O}_2\cdot\text{m}^{-2}$ et intégrées sur une demi-heure. La P_n est représentée par la portion au-dessus de la ligne de respiration. En note, sont repris le rapport P/R, la teneur en Chla en $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ et la température de l'eau (in situ) en $^{\circ}\text{C}$.

EVOLUTION DES ACTIVITES LE 15/06/88

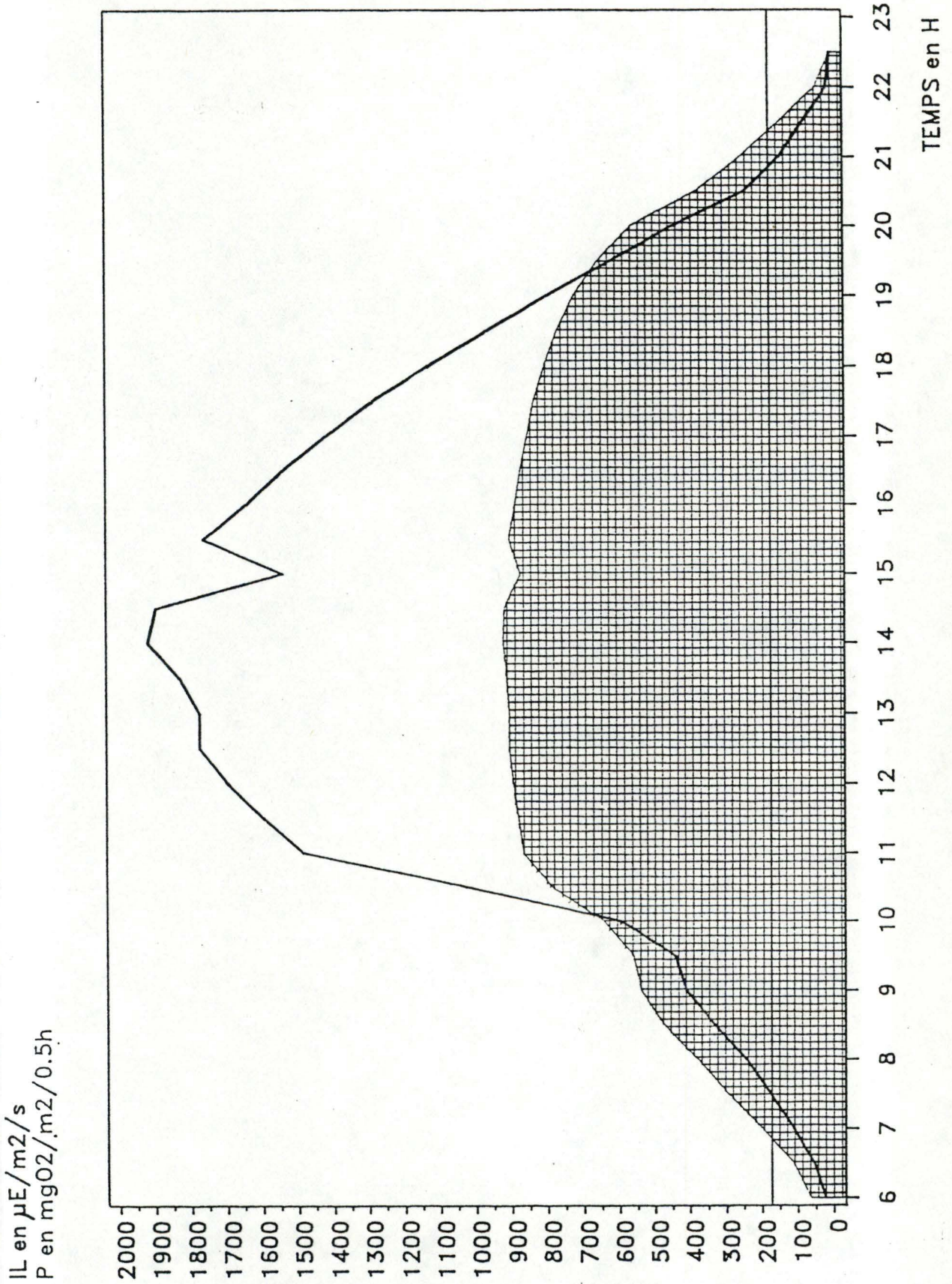


Fig.3.7 - Simulation de P et R pour la journée du 15 juin 1988. La courbe en trait épais représente l'intensité lumineuse (PAR) en $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$; la partie quadrillée représente la P_n et le trait horizontal la respiration, toutes deux en $mg O_2.m^{-2}$ et intégrées sur une demi-heure. La P_n est représentée par la portion au-dessus de la ligne de respiration. En note, sont repris le rapport P/R, la teneur en Chla en $\mu g.l^{-1}$ et la température de l'eau (in situ) en $^{\circ}C$.

V. SIMULATION DE L'EVOLUTION DU PHYTOPLANCTON AU COURS DE L'ANNEE 1986

Comme nos mesures ont permis de déboucher sur une évaluation de la respiration phytoplanctonique différente de celle prise en compte dans le modèle écologique de la Meuse [BILLEN *et al.*, 1985], il était intéressant d'envisager les conséquences d'une modification de l'activité respiratoire phytoplanctonique sur le fonctionnement du système.

A notre demande, l'Unité de Modélisation Mathématique des Eaux Intérieures de l'Université de Liège a réalisé trois simulations du plancton de la Meuse en 1986 :

- la première sert de référence et comporte une respiration phytoplanctonique inchangée, c'est à dire calculée suivant l'équation

$$\hat{R} = 0,6 \cdot 2^{\frac{T-20}{10}} \cdot \text{Chla}$$

- dans la deuxième (solution 2), \hat{R} est calculée sur base d'une respiration à 20°C de 0,9 mg O₂. (mg Chla)⁻¹.h⁻¹, et d'un Q₁₀ de 2,2 (voir IV.2.2)
- dans la troisième (solution 3), \hat{R} est calculée comme une fraction de P_{max}, avec R/P_{max} = 0,06 (voir IV.2.1).

Ces simulations utilisent les valeurs paramétriques du modèle Meuse obtenues d'après les études approfondies réalisées en 1983-1984. Les variables d'entrée caractérisant l'année 1986 sont essentiellement le débit, la température de l'eau et l'intensité lumineuse en surface. Nous avons choisi de comparer les valeurs données pour la station d'Anseremme, station la plus proche de notre site d'étude.

Au niveau du bilan annuel, les principaux résultats provenant de la comparaison des trois simulations sont les suivants (tableau 3.14) :

- la modification de l'activité respiratoire du phytoplancton induit une diminution sensible de la biomasse phytoplanctonique : on passe d'une valeur moyenne de $1,227 \text{ g C.m}^{-3}$ pour le modèle inchangé à $0,967$ (solution 2) et à $0,874$ (solution 3)
- l'augmentation de l'activité respiratoire moyenne ($0,163 \text{ g C.m}^{-3}.\text{j}^{-1}$ pour la solution 2 et $0,175 \text{ g C.m}^{-3}.\text{j}^{-1}$ pour la solution 3, contre $0,106$ pour la référence) est compensée dans une certaine mesure par une diminution des termes de disparition, en particulier le grazing par le zooplancton qui décroît de 50% environ.

Nous présentons aux figures 3.8 à 3.11, les graphiques établis à partir des valeurs quotidiennes des simulations du plancton de la Meuse en 1986, et ce pour la respiration phytoplanctonique ainsi que pour les principaux paramètres influencés par celle-ci, à savoir la biomasse phytoplanctonique, la biomasse du zooplancton et le grazing. Nous ne disposons pas de données expérimentales suffisantes pour la station d'Anseremme; les graphiques et les valeurs que nous présentons dans ce chapitre sont donnés à seul titre indicatif.

Cette constatation rejoint notre conclusion du point IV.2.3. sur les conséquences de la modification d'activité respiratoire. Restent à vérifier ces simulations par des mesures in situ du taux de grazing et, bien entendu, à intensifier les mesures de l'activité respiratoire, en espérant obtenir des relations plus satisfaisantes et à en préciser les dépendances vis-à-vis de la température et de la composition du phytoplancton. Au stade actuel, si les deux formulations proposées sont encore bien imparfaites, elles permettent au moins de calculer une activité respiratoire du phytoplancton plus proche des valeurs mesurées.

Tableau 3.14
SIMULATION 86.

Valeurs calculées des principales variables du modèle écologique de Haute Meuse, selon les trois types de simulation (voir texte).

	Biomasse phytopl. g C/m ³	Production primaire g C/m ³ /j	Respirat° phytopl. g C/m ³ /j	Mortalité g C/m ³ /j	Biomasse zoopl. g C/m ³	Grazing g C/m ³ /j	Sédiment° g C/m ³ /j
Référence	1.227	0.4766	0.1058	0.1058	0.058	0.1139	0.0452
Solution 1	0.967	0.4311	0.1625	0.0824	0.041	0.0617	0.0346
Solution 2	0.874	0.4095	0.1754	0.0753	0.038	0.0525	0.0315

SIMULATION 1986

phytoplankton (gC/m³)

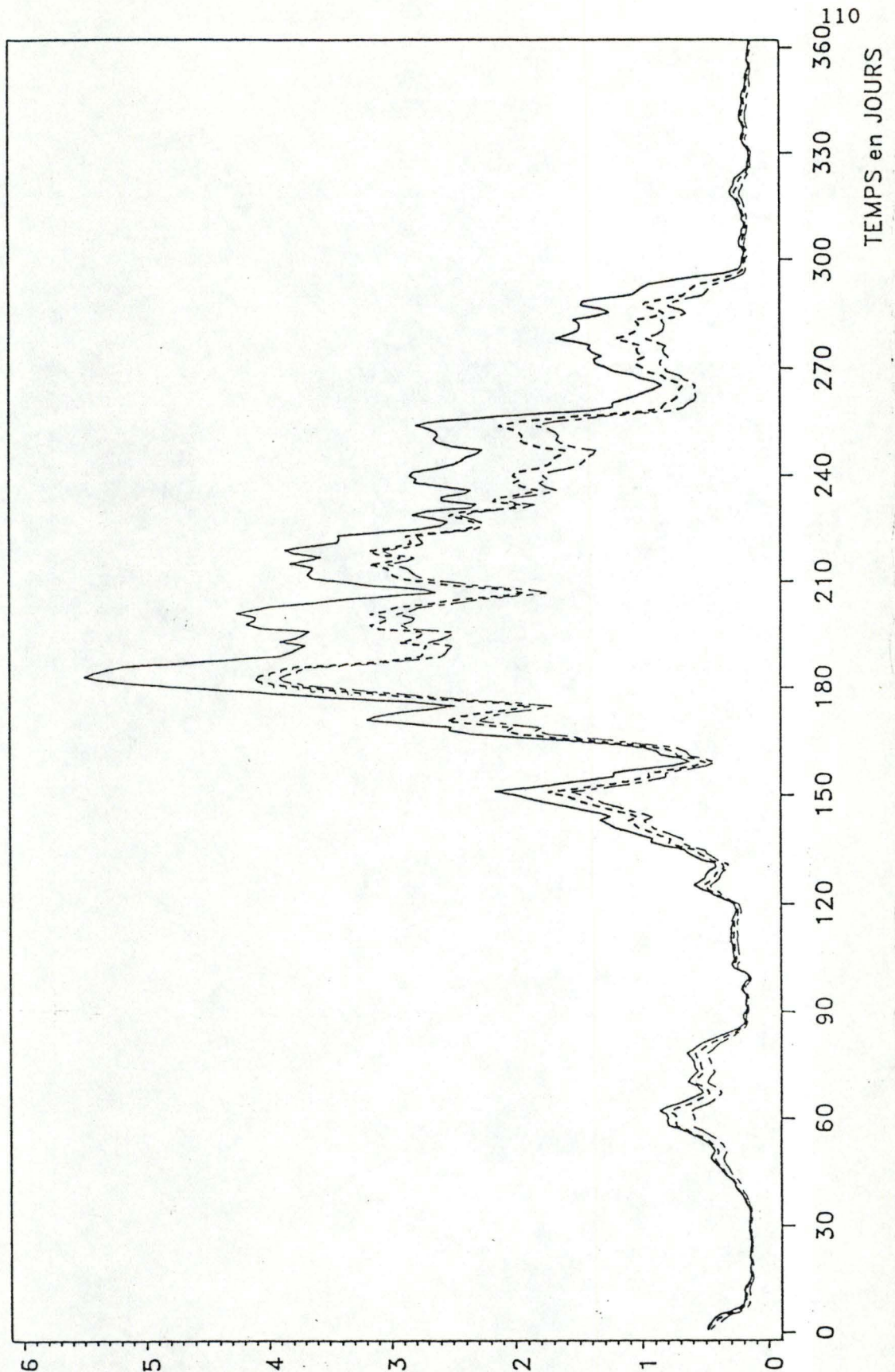


Fig.3.8 - Simulation de la biomasse phytoplanktonique durant l'année 1986 (station d'Anseremme), selon le modèle écologique de Haute Meuse [BILLEN et al., 1985].

- simulation de référence, considérant une respiration phytoplanktonique calculée suivant l'équation proposée par BILLEN et al. (1985).
- - - solution 2, calculée sur base d'une respiration à 20° de $0,9 \text{ mg O}_2 \cdot (\text{mg Chla})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ et d'un Q_{10} de 2,2.
- · - solution 3, avec la respiration calculée comme une fraction de P_{max} , avec $R/P_{\text{max}} = 0,06$.

SIMULATION 1986

Respiration phyto (gC/m³/j)

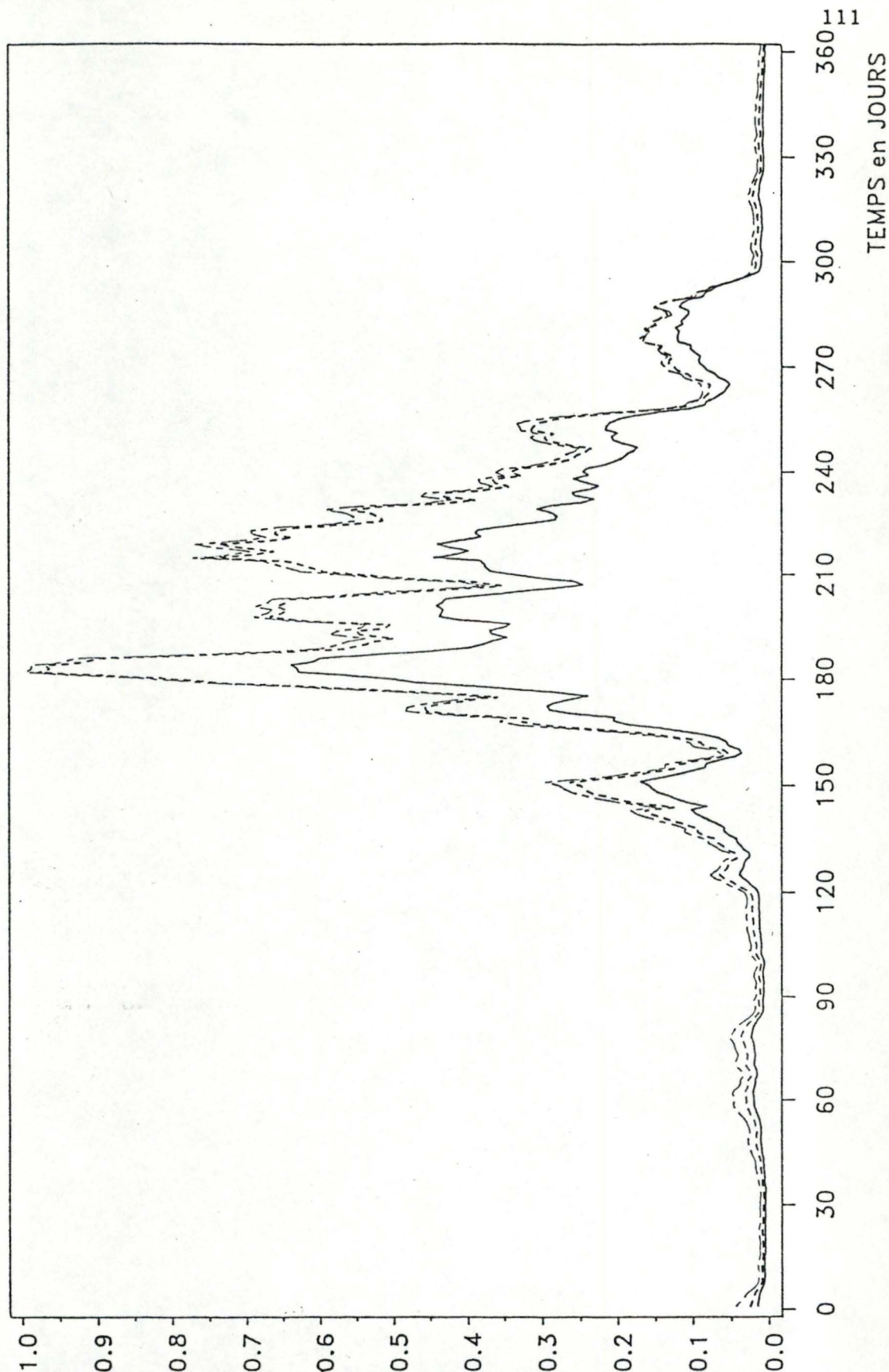


Fig.3.9 - Simulation de la respiration phytoplanctonique durant l'année 1986 (station d'Anseremme), selon le modèle écologique de Haute Meuse [BILLEN et al., 1985].

- simulation de référence, considérant une respiration phytoplanctonique calculée suivant l'équation proposée par BILLEN et al. (1985).
- - - - solution 2, calculée sur base d'une respiration à 20° de 0,9 mg O₂.(mg Chla)⁻¹.h⁻¹ et d'un Q₁₀ de 2,2.
- · - · solution 3, avec la respiration calculée comme une fraction de P_{max}, avec R/P_{max} = 0,06.

SIMULATION 1986



Fig.3.10 - Simulation de la biomasse zooplanctonique durant l'année 1986 (station d'Anseremme), selon le modèle écologique de Haute Meuse [BILLEN et al., 1985].

- simulation de référence, considérant une respiration phytoplanctonique calculée suivant l'équation proposée par BILLEN et al. (1985).
- - - - solution 2, calculée sur base d'une respiration à 20° de $0,9 \text{ mg O}_2 \cdot (\text{mg Chla})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ et d'un Q_{10} de 2,2.
- · - · solution 3, avec la respiration calculée comme une fraction de P_{max} , avec $R/P_{\text{max}} = 0,06$.

SIMULATION 1986

Grazing (gC/m³/i)

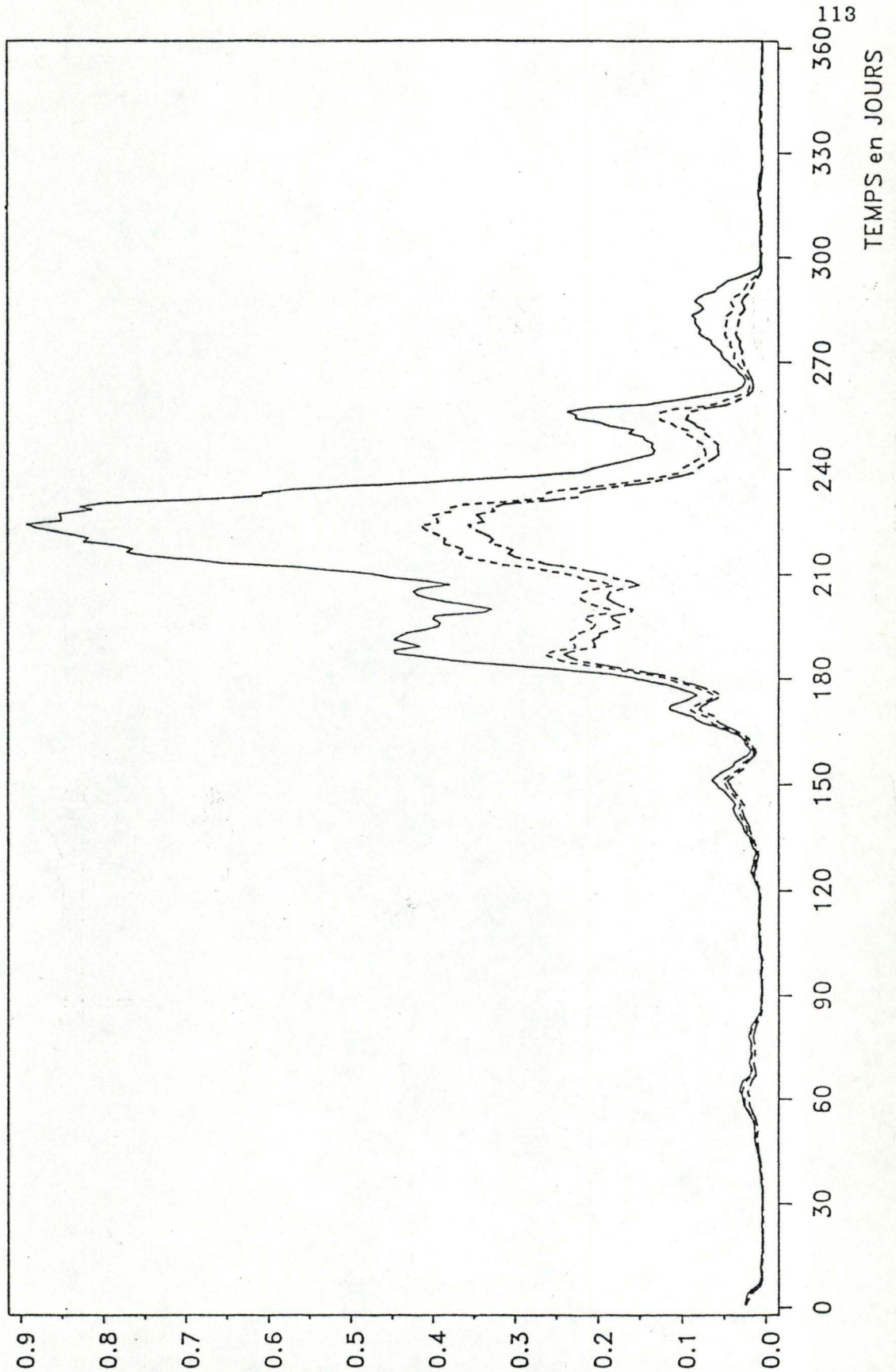


Fig.3.11 - Simulation du grazing durant l'année 1986 (station d'Anseremme), selon le modèle écologique de Haute Meuse [BILLEN et al., 1985].

- simulation de référence, considérant une respiration phytoplanctonique calculée suivant l'équation proposée par BILLEN et al. (1985).
- - - - - solution 2, calculée sur base d'une respiration à 20° de 0,9 mg O₂.(mg Chla)⁻¹.h⁻¹ et d'un Q₁₀ de 2,2.
- · - · - solution 3, avec la respiration calculée comme une fraction de P_{max}, avec R/P_{max} = 0,06.

CONCLUSIONS

Nos objectifs étaient :

- la mise au point d'une technique sensible de mesure de la respiration du phytoplancton in situ.
- l'obtention de premières données pour vérifier le bilan production-respiration du phytoplancton de la Meuse et valider le modèle écologique proposé par BILLEN *et al.*(1985).

L'étape de mise au point d'une technique sensible de mesure de la respiration du phytoplancton a été entièrement réalisée. Nous avons utilisé un dosage enzymatique au niveau de la chaîne de transporteurs d'électrons de la respiration connu sous le nom de dosage ETS. La méthode de dosage peut être divisée en trois étapes distinctes : la concentration du phytoplancton, l'homogénéisation de l'échantillon et le dosage proprement dit. Nous avons choisi comme méthode d'homogénéisation, la sonication.

La mise au point de la méthode s'est faite en deux étapes : dans un premier temps sur cultures unispécifiques afin de simplifier les manipulations et de vérifier la reproductibilité des mesures, dans un second temps, à partir d'échantillons de terrain. Deux espèces ont été choisies, parmi les deux groupes d'algues des plus représentés en Meuse : une diatomée, *Cyclotella meneghiniana* et une algue verte, *Dictyosphaerium ehrenbergianum*. La concentration des prélèvements de cultures pouvaient se faire par centrifugation et la limpidité de l'échantillon obtenu après addition de tampon d'homogénéisation permettait une sonication aisée. En ce qui concerne les échantillons de terrain, ils étaient concentrés par filtration, puis le filtre broyé au potter avant homogénéisation par sonication. Outre l'optimisation dans la réalisation de chaque opération, l'étape essentielle de la mise au point fut l'optimisation du temps de sonication.

Celle-ci réalise un compromis entre le nombre de cellules rompues et la préservation des complexes enzymatiques. Elle a été effectuée deux fois pour les mesures de terrain, pour des compositions phytoplanctoniques différentes : dans les deux cas, le temps optimal était de 3 minutes, laissant supposer une résistance des cellules équivalente quelle que soit l'espèce, in situ (ce qui n'est pas le cas pour les cultures) et nous assurant une comparaison fiable de nos mesures.

En ce qui concerne les données de terrain, nous avons réalisé onze campagnes de mesures en Meuse, à la station de La Plante. Celles-ci nous ont fourni un bon point de départ quant à l'appréciation des taux respiratoires. Nous avons ainsi pu proposer des corrections des valeurs paramétriques de la respiration du phytoplancton dans le modèle de fonctionnement de l'écosystème de Haute Meuse. Ce modèle semble sous estimer le compartiment respiration phytoplanctonique et par voie de conséquence surestime peut-être la valeur du taux de grazing. Nous avons également montré le type d'information que peut fournir la mesure de la respiration phytoplanctonique en présentant quelques exemples de simulations de P et R ainsi que les calculs de P_N et de taux de croissance.

Toutefois, 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 la relation respiration - température reste encore approximative, mais il semblerait que celle-ci soit liée à la composition des communautés phytoplanctoniques. Il serait donc intéressant d'étudier l'activité ETS en fonction de la température pour différentes communautés, incubées expérimentalement à différentes températures.

Nous attirons l'attention également sur le fait que le taux respiratoire est peut-être surestimé. En effet, nous n'avons pas d'idée de la fraction qui pourrait être due aux bactéries et n'en n'avons pas tenu compte dans nos calculs. Une étude du dosage ETS après fractionnement du plancton pourrait nous fournir de plus amples renseignements à ce sujet. Toutefois, cette technique demande une mise au point minutieuse, comme nous avons pu nous en rendre compte lors de quelques essais de fractionnement

infructueux. Par ailleurs, FURNAS (1987) insiste sur le traumatisme que peut produire un pré-fractionnement, notamment sur l'incorporation de ^{14}C , et recommande vivement la réalisation de témoins lors de l'utilisation de telles méthodes.

Enfin, la valeur du rapport R/ETS dont nous nous sommes servis pour nos calculs de respiration est reprise de la littérature. Cependant, la valeur de ce rapport pouvant varier d'une espèce à l'autre, la détermination de sa valeur pour la Meuse demanderait une étude approfondie. Il serait ainsi intéressant d'étudier le rapport R/ETS pour une série de cultures unispécifiques d'un certain nombre d'espèces mosanes. Une étude in situ, suivie sur un cycle annuel par exemple, est également indispensable. Se pose alors le problème d'une méthode suffisamment sensible pour mesurer la respiration. Nous pourrions envisager une mesure de la consommation d'oxygène, par la méthode de Winkler, d'un échantillon d'eau concentré. Cette concentration pourrait être effectuée après filtration, afin d'éliminer les bactéries (avec toutes les précautions indiquées dans le paragraphe précédent), puis resuspension dans le volume d'eau stérilisée souhaité.

ANNEXE

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX DE LA PARTIE RESULTATS

Figures

- Figure 3.1 - Optimisation du temps de sonication pour
Dictyosphaerium ehrenbergianum. p. 82
- Figure 3.2 - Optimisation du temps de sonication pour
Cyclotella meneghiniana. p. 82
- Figure 3.3 - Relation Respiration - Température pour les campagnes
de mesures en Meuse s'étendant du 28 avril au 29 juin
1988 (station de La Plante) p.101
- Figure 3.4 - Simulation de P et R pour la journée du 6 mai. p.103
- Figure 3.5 - Simulation de P et R pour la journée du 18 mai p.104
- Figure 3.6 - Simulation de P et R pour la journée du 7 juin p.105
- Figure 3.7 - Simulation de P et R pour la journée du 15 juin p.106
- Figure 3.8 - Simulation de la biomasse phytoplanctonique durant
l'année 1986 (station d'Anseremme), selon le modèle
écologique de Haute Meuse [BILLEN *et al.*, 1985]. p.110
- Figure 3.9 - Simulation de la respiration phytoplanctonique durant
l'année 1986 (station d'Anseremme), selon le modèle
écologique de Haute Meuse [BILLEN *et al.*, 1985]. p.111
- Figure 3.10 - Simulation de la biomasse zooplanctonique durant
l'année 1986 (station d'Anseremme), selon le modèle
écologique de Haute Meuse [BILLEN *et al.*, 1985]. p.112
- Figure 3.11 - Simulation du grazing phytoplanctonique durant
l'année 1986 (station d'Anseremme), selon le modèle
écologique de Haute Meuse [BILLEN *et al.*, 1985]. p.113

Tableaux

Tableau 3.1	- Optimisation du temps de sonication pour cultures de <i>Dictyosphaerium ehrenbergianum</i> .	p. 81
Tableau 3.2	- Optimisation du temps de sonication pour cultures de <i>Cyclotella meneghiana</i> .	p. 81
Tableau 3.3	- Reproductibilité du dosage ETS pour échantillons de culture (<i>D. ehrenbergianum</i>).	p. 81
Tableau 3.4	- Optimisation du temps de sonication pour échantillons de terrain. Le 19 avril 1988.	p. 83
Tableau 3.5	- Reproductibilité du dosage ETS pour échantillons de terrain. Le 20 avril 1988.	p. 83
Tableau 3.6	- Optimisation du temps de sonication pour échantillons de terrain. Le 9 mai 1988.	p. 84
Tableau 3.7	- Optimisation du temps de sonication pour échantillons de terrain. Le 10 mai 1988.	p. 84
Tableau 3.8	- Optimisation du temps de sonication pour échantillons de terrain. Statistiques sur les pourcentages. (journées du 9/5 et du 10/5)	p. 84
Tableau 3.9	- Etude écologique de la Meuse. Station de La Plante.	p. 89
Tableau 3.10	- Composition du phytoplancton durant les campagnes de mesures en Meuse s'étalant du 28/04/88 au 29/06/88 (station de La Plante)	p. 91
Tableau 3.11	- Résultats de respiration et de production.	p.100
Tableau 3.12	- Estimation de la respiration via la valeur de P_{max}	p.102
Tableau 3.13	- Estimation de la respiration via la valeur de Chl_a et la température.	p.102
Tableau 3.14	- Simulation 1986. Valeurs calculées des principales variables du modèle écologique de Haute Meuse, selon les trois types de simulation.	p.109

BIBLIOGRAPHIE

- BILLEN, G., DESCY, J. P., SERVAIS, P. and SMITZ, J. S. (1985). Etude Ecologique de la Haute Meuse et Modélisation du Fonctionnement de l'Ecosystème Aquatique. Rapport final. Ministère de la Région Wallonne pour l'Eau, l'Environnement et la Vie Rurale, 250 p.
- CHRISTENSEN, J. P. and PACKARD, T. T. (1977). Sediment Metabolism from the Northwest African Upwelling System. *Deep-Sea Research* 24, 331-343.
- CHRISTENSEN, J. P. and PACKARD, T. T. (1979). Respiratory Electron Transport Activities in Phytoplankton and Bacteria : Comparison of Methods. *Limnol. Oceanogr.* 24(3), 576-583.
- DESCY, J. P., SERVAIS, P., SMITZ, J. S., BILLEN, G. and EVERBECQ, E. (1987). Phytoplankton Biomass and Production in the River Meuse (Belgium). *Water Res.* 21, 1557-1566.
- DESCY, J. P. (1987). Phytoplankton Composition and Dynamics in the River Meuse (Belgium). *Arch. Hydrobiol. suppl.* 2, *Algol. Stud.* 47, 225-245.
- DESCY, J. P. (1988). L'Eutrophisation en Rivière, Conférence au 25e Congrès des Sciences. *PROBIO*, 11, 1-2, 107-123.
- DEVOL, A. H. and PACKARD, T. T. (1978). Seasonal Changes in Respiratory Enzyme Activity and Productivity in Lake Washington Microplankton. *Limnol. Oceanogr.* 23, 104-111.
- FOYER, C. H. (1984). *Photosynthesis*. John Wiley and Sons, 219 p.
- FURNAS, M. J. (1987). Effects of Prescreening on Productivity of Size-fractionated Phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 32(2), 483-491.
- GOLTERMAN, H. L. (1969). *Methods for Chemical Analysis of Freshwaters*. IBP Handbook, Blackwell Sc. Publ. Oxford and Edinburgh, 8, 166 p.

- HARRIS, G. P. (1978). Photosynthesis, Production and Growth: the Physiological Ecology of Phytoplankton. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. 10, 1-171.
- HARRIS, G. P. (1986). Phytoplankton Ecology: Structure, Function and Fluctuation. Chapman and Hall, 384 p.
- HENRIETTE, M. F. (1987). Etude de la Production Primaire de la Haute Meuse (secteur ANSEREMME-NAMUR) et dans la Sambre. Mémoire de licence en Sc. Zool. FNDP, Namur, 54 p. + tableaux et annexes-.
- LE CREN, and LOWE-McCONNELL, (1980). The Functioning of Freshwater Ecosystems. Cambridge University Press, 588 p.
- LORENZEN, C. J. (1967). Determination of Chlorophyll and Phaeopigments : Spectrophotometric Equations. Limnol. Oceanogr. 12, 343-346.
- MARKER, A. F. H., NUSCH, E. A., RAI, H. and RIEMANN, B. (1980). The Measurement of Photosynthetic Pigments in Freshwaters and Standardization of Methods : Conclusions and Recommendations. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. 14, 91-106.
- NOBEL, P. S. (1983). Biophysical Plant Physiology and Ecology. W. Freeman and Co. San Francisco, 607 p.
- PACKARD, T. T. (1971). The Measurement of Respiratory Electron Transport Activity in Marine Phytoplankton. Journ. Mar. Res. 29, 235-244.
- PACKARD, T. T. (1985). Measurement of Electron Transport Activity of Microplankton. Advances in Aquatic Microbiology 3, 207-261.
- PECHAR, L. (1987). Use of Acetone : Methanol Mixture for Extraction and Spectrophotometric Determination of Chlorophyll a in Phytoplankton. Arch. Hydrobiol. Suppl. 78, 1, Algol. Stud. 46, 99-117.
- PLATT, T. (1981). Physiological Bases of Phytoplankton Ecology. Can. Bull. Fish. Aq. Sci. 210, 346 p.
- POURRIOT, R., CAPBLANCQ, J., CHAMP, P. and MEYER, J. A. (1982). Ecologie du Plancton des Eaux Continentales. Masson Paris, 198 p.
- RAI, H. (1982). Primary Production of Various Size Fractions of Natural Phytoplankton Communities in a North German Lake. Arch. Hydrobiol. 95(1/4), 395-412.
- RAI, H. (1984). Size-dependent Respiratory-enzyme Activity and Primary Production of Microplankton in Schöhsee (a North German Baltic Lake). Arch. Hydrobiol. 102(2), 239-253.

- RAI, H. (1988). Activity of Respiratory Electron Transport System (ETS) in Different Size Particles as a Measure of Carbon Losses from Primary Producers. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, Stuttgart, 23, 503-504.
- REYNOLDS, C. S. (1984). *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press, 384 p.
- RODIER, J. (1966). *L'Analyse Chimique et Physico-chimique de l'Eau. Eaux naturelles - Eaux Usées*. Dunod éd. Paris, 412 p.
- RODIER, J. (1975). *L'Analyse de l'Eau: Eaux Naturelles, Eaux Résiduares, Eaux de Mer*. Dunod éd. Paris, 1, 629 p.
- RODIER, J. (1975). *L'Analyse de l'Eau: Eaux Naturelles, Eaux Résiduares, Eaux de Mer*. Dunod éd. Paris, 2, 364 p.
- SERVAIS, P. (1987). *Etude de la Dégradation de la Matière Organique par les Bactéries Hétérotrophes en Rivière. Développement d'une Démarche Méthodologique et Application à la Meuse Belge. Première partie. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences*. Université Libre de Bruxelles, 1, 156 p.
- SMITH, E. L. (1936). Photosynthesis in Relation to Light and Carbon Dioxide. *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.* 22, 504-511.
- Standing Committee of Analysts, (1981). *Methods for the Examination of Waters and Associated Materials*. Department of the Environment, London, 47 p.
- TALLING, J. F. (1957). The Phytoplankton Population as a Coumpound Photosynthetic System. *New Phytol.* 56, 133-149.
- 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 (suppl.), 425-457.
- VOLLENWEIDER, R. A. (1974). *A Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments*. IBP Handbook, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 12, 225 p.
- WEST, P. W. and RAMACHANDRAN, T. P. (1966). Spectrophotometric Determination of Nitrate Using Chromotropic Acid. *Analytica Chimica Acta* 35, 317-324.
- WETZEL, R. G. and LIKENS, G. E. (1979). *Limnological Analyses*. W. Saunders Company, Philadelphia, 357 p.