

GROUPE MATIERE ORGANIQUE

Synthèse des recherches sur le phytoplancton (période 1979)

Ch. Lancelot (ULB) A. Bertels (VUB) J.Nys (VUB) C. Nihoul (Mat.Mod.Noordzee en Schelde estuarium) L.Goeyens.(VUB)

Les travaux antérieurs du groupe matière organique ont soulevé le problème de la non-cohérence entre la production phytoplanctonique (sousestimée?) et la consommation hétérotrophe (surestimée?). L'objectif des travaux de recherches du sous-groupe phytoplancton a donc été de préciser au mieux tous les flux de productions phytoplanctoniques. La sousestimation de la production phytoplanctonique mesurée par la méthode ^{14}C de Steeman Nielsen pouvant résulter d'une production phytoplanctonique importante de matière organique dissoute et/ou de respiration phytoplanctonique pendant la durée de l'incubation, les recherches ont surtout visé à obtenir une meilleure évaluation quantitative de la production dissoute globale et de la respiration et d'en comprendre les mécanismes de régulation par la lumière (y compris l'obscurité). Les résultats de ces travaux sont discutés dans l'annexe 1 du présent rapport.

D'autre part, des travaux expérimentaux plus spécifiques, relatifs à la nature des métabolites produits par le phytoplancton ont été entrepris dans le but de mieux comprendre le rôle du phytoplancton dans le cycle global de la matière organique. La matière organique, communément fractionnée en matière particulaire et dissoute se compose à la fois d'organismes vivants et de matières détritiques endogènes et exogènes et ce dans des proportions variables suivant le milieu et la saison. Elle est donc formée d'entités chimiques très différentes dont certaines sont labiles et caractérisées par de grandes vitesses de turnover. D'autres par contre sont plus réfractaires

à la dégradation et s'accumulent.

Les travaux de recherches du sous-groupe phytoplancton se sont dès lors attachés à spécifier la nature chimique de la matière particulaire selon le critère d'utilisabilité biologique et d'en préciser le contrôle exercé par le phytoplancton. La spéciation de la matière organique dissoute, quant à elle, fait l'objet des travaux du sous-groupe microbiologie.

Les recyclages des matières organiques particulières et dissoutes sont assurés respectivement par le zooplancton, et le bactérioplancton. Le critère d'utilisabilité biologique est donc différent pour les deux composantes de la matière organique. Ainsi, la croissance du zooplancton, organisme filtrant, dépend de la composition en protéines, hydrates de C et lipides des particules dont la taille est définie par leur capacité de filtration, celle du bactérioplancton des petits métabolites dissous directement utilisables et des polymères potentiellement utilisables.

Afin de réaliser nos objectifs, différents travaux ont été menés simultanément :

- Des mesures de protéines, hydrates de C et lipides ont été effectuées d'une part sur le stock total de matière particulaire et exprimées par rapport à la matière organique totale exprimée en Carbone (annexe 2) et d'autre part sur trois classes de taille de particules (annexe 3).
- Les flux de productions phytoplanctoniques de protéines, hydrates de C et lipides particuliers et petits et grands métabolites dissous ont été mesurés. L'étude cinétique de ces derniers a permis une estimation de la consommation hétérotrophe des produits d'excrétion phytoplanctonique.

Des hypothèses quant à la régulation par la lumière et la disponibilité des éléments nutritifs majeurs de ces différents flux ont pu être avancées (annexe 4)

Annexe 1:

Het quantitatief aspect van de particulare en opgeloste
produktie en de respiratie

A Bertels, Laboratorium voor Ekologie en Systematiek VUB

J Nys , Laboratorium voor Ekologie en Systematiek VUB

C Nihoul , Mat. Mod. Noordzee en Schelde esturium

I: HET KWANTITATIEF ASPECT VAN DE PARTICULAIRE EN
OPGELOSTE PRODUKTIE EN DE RESPIRATIE.

A. BERTELS VUB

J. NIJS VUB

C. NIHOUL MAT.MOD.NOORDZEE
en SCHELDE estuarium

INLEIDING:

In het kader van de incoherentie tussen de bruto primaire produktie en consumptie door heterotrofe bacterien werden verdere metingen verricht betreffende de primaire produktie. De particulaire en opgeloste primaire produktie evenals de respiratie zijn dit jaar gemeten. Er werd zowel aandacht besteed aan de licht- als aan de donkerreactie. In het licht betreft dit de incorporatie van ^{14}C door fotosynthese en de hoeveelheid organisch materiaal die de cel vrijmaakt in het milieu. In het donker komt dit neer op de hoeveelheid gemerkte anorganische stof die terug in het milieu komt door de respiratie. Dit in drie zones: namelijk een eutrofe, een oligotrofe en een estuariene zone, respectievelijk Oostende, Calais en Hansweert. De chlorofyl metingen voor de drie verschillende fytoplankton frakties nl: $< 25\%$, $< 100\%$ en $> 100\%$ zijn weergegeven in Tech. Rep. "Dosage van chlorofyl-en phaeopigmenten tijdens de maanden April, mei, juni en september 1979: Organische stoffen".

A. PARTICULAIRE PRIMAIRE PRODUKTIE.

De fotosynthese-lichtkurven van de particulare primaire produktie evenals de kinetieken van deze fraktie in het licht en bij overgang naar het donker werden bepaald.

1. Invloed van het licht op de particulare produktie.

- Deze proeven werden in semi-situ uitgevoerd bij verschillende lichtintensiteiten, respectievelijk 100% - 80% - 45% - 25% van de totale lichtintensiteit. Uit de bekomen fotosynthese-lichtkurven werden de parameters I_K (=lichtintensiteit waarbij de maximale produktie optreedt) en P_{opt} (optimale prod) bepaald ;

station	april 79		mei 79		juni 79		september 79	
	$I_K - P_{opt}$		$I_K - P_{opt}$		$I_K - P_{opt}$		$I_K - P_{opt}$	
Oostende	8	27	25	89	16	13	-	
			8	27				
Calais	20	3	18	27	24	20	23	2
Hansweert	20	6	20	36	38	185	9	20
			42	54				

Tabel 1: I_K ($J/cm^2/h$) en P_{opt} ($mgC/m^3/h$);

Zoals reeds eerder bevestigd werd voor Oostende, vinden we ook hier een seizoenale regulatie van I_K voor een oligotroof en estuarien milieu. Inderdaad tijdens de lentebloom (begin mei voor Oostende) treedt een hogere I_K op. De drie biotopen onderscheiden zich hierin enigszins van elkaar, zo is de I_K Oostende $< I_K$ Calais $< I_K$ Hansweert en dit voor

april - mei - juni '79. Dit kwam in '78 niet zo duidelijk naar voor. Deze I_K variaties kunnen begrepen worden door te veronderstellen dat de fytoplanktonpopulatie op hetzelfde tijdstip voor Oostende, Calais en Hansweert verschillen van elkaar. De parameters k_{opt} (=max fotosynthetisch rendement van het chlorofyl) en α (k_{opt}/I_K) werden berekend daar zij de fysiologische activiteit van het fytoplankton weergeven. Uit tabel 2a resulteert zich het hoogste rendement voor juni (zooplanctonbloom) en een laagste waarde voor april, dit in de drie biotopen, hetgeen vorig jaar gesuggereerd werd (bloomeffect). Dit hoogste rendement komt overeen met de zoo-planctonbloom. In tegenstelling tot '78 doet zich hier duidelijk een seizoenale variatie voor, doch echter geen duidelijke regionale wijziging, hetgeen in '78 ook gevonden werd. De I_K en de P_{opt} laten toe de gëintegreerde produktie in functie van de diepte en de dag te berekenen, dit volgens het Vollenweider-model (tabel 2a). Deze is voor Oostende het hoogst ($4,4 \text{ gC/m}^2/\text{d}$) rond begin mei, voor Calais rond einde mei ($1,9 \text{ gC/m}^2/\text{d}$) en voor Hansweert rond eind juni ($2,9 \text{ gC/m}^2/\text{d}$) met een voorafgaande lagere piekwaarde voor begin mei. Indien we een ruwe schatting maken van de gemiddelde netto particulaire produktie ($\text{mgC/m}^2/\text{d}$) voor de gemeten periodes komen we voor '79 tot merkkelijk hogere waarden dan in '78. Voor Oostende is dit een factor 5, voor Hansweert een factor 20 en voor Calais bedraagt dit slechts 1,3. (graf. 1-2)

- Particulaire primaire produktie kinetieken bij konstant licht en bij overgang naar het donker, geven in het licht een lineair stijgende functie aan, deze in het donker kent een onregelmatig verloop, wanneer de resterende anorganische en organische ^{14}C in het milieu blijven, indien echter na licht-incubatie de gemerkte cellen in een niet radioactief milieu in het donker geplaatst worden, blijft de geassimileerde hoeveelheid radioactief materiaal in de cellen behouden voor de twee uur donkerincubatie (grafiek 3 en respiratiegrafieken). Dit doet het vermoeden rijzen dat centrifugatie de zwakste cellen verwijdt, zodat tijdens de donkerincubatie de cellen niet lyseren, hetgeen wel zou gebeuren bij partikels die zonder centrifugatie in het donker geplaatst worden.

2. Nutriëntopname door fytoplankton in het licht.

Er werd gepoogd na te gaan of er een opname is van een of van verschillende nutriënten (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , PO_4^{---} , Si^{++}) door het fytoplankton.

Hiervoor werd er totaal zeewater in semi-situ geïnkubeerd bij 100 % lichtintensiteit en dit gedurende 5-7 uur.

Voor en na de inkubatie werd er een hoeveelheid staal afgefiltreed over GF/C glasvezel bij licht vacuum. Het filtraat werd onmiddellijk ingevroren.

De concentraties van de verschillende nutriënten werden bepaald in het laboratorium voor Analytische Scheikunde door de heer A. Vandenhoude.

De resultaten zullen, van zodra ze uitgewerkt zijn, besproken worden in een technical report.

B. OPGELOSTE PRIMAIRE PRODUKTIE.

Regulatie van het licht op de opgeloste primaire produktie, evenals de lozing van organisch materiaal bij overgang van licht naar donker, in functie van de tijd, werden nagegaan.

Methodologische problemen:

- Contaminatie in de ^{14}C -ampouille en t_0 - metingen op natuurlijke stalen.

De contaminatie van de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -ampouille in steriel gefiltreerd zeewater (0.45%) bedraagt 0.056% na acidificatie met H_2SO_4 10% en 30 minuten bubbling. De t_0 bepalingen op natuurlijk zeewater, geven na acidificatie en bubbling echter een veel hogere contaminatie aan, namelijk 0.34%. Het weze hierbij opgemerkt dat deze t_0 contaminatie representatief is

voor de kruisvaarten van '79.* Daar de contaminatie van de ampoulen in steriel gefiltreerd zeewater veel lager is dan deze in natuurlijk zeewater, laat ons vermoeden dat tengevolge de filtratie op GF C filter zich een gevoelige contaminatiestijging voordoet.

-Een tweede probleem stelt zich in het onregelmatig verloop van de opgeloste produktie in de loop van de tijd in de donker.(graf.3). Tijdens de respiratiemetingen van de opgeloste produktie treden na centrifugatie ^{en wassen} van de geïncubeerde cellen deze onregelmatigheden niet op. In de meeste gevallen vinden we hier een zeer lage tot afwezige excretie terug. Dit zou erop kunnen duiden dat de zwakste fytoplanktoncellen na centrifugatie gelyseerd zijn, en enkel de gezonde cellen over blijven die dan geen excretie vertonen. Zo kunnen de gemeten onregelmatigheden in de excretie zonder centrifugatie toe te schrijven zijn aan mortaliteit van de cellen.

Resultaten:

1. Regulatie van het licht op de opgeloste produktie.

Uit tabel drie blijkt dat het licht voor de maanden juni en september in de drie biotopen geen invloed heeft op de opgeloste produktie. Voor april en mei (lentebloom) treedt een lichtregulatie op. De maximale opgeloste produktie voor Oostende correspondeert met een lichtintensiteit van 20 - 12 J/cm²/h (PAR), voor Calais bij 18 - 14 J/cm²/h, voor Hansweert bij 16 - 25 J/cm²/h. Deze lichtregulatie zou dus hier seizoensnaal bepaald zijn.

Daar de lichtregulatie van de opgeloste produktie hier benaderend aan dezelfde wetten beantwoordt als de particuliere produktie, werd het Vollenweidermodel hier toegepast. In '78 werd voor april eveneens een lichtregulatie waargenomen. Er zijn echter niet voldoende aanduidingen om dit als regel te aanvaarden, eens te meer daar de background van de opgeloste produktie te hoog ligt.

* :voor 1978 bedroeg de min. contaminatie 0.086%

max. contaminatie 0.32%

2. Kwantitatieve bepaling van de opgeloste produktie.

- Tabel drie geeft ons de maximale opgeloste produktiewaarden voor de drie stations, deze werden berekend uit de fotosynthese-lichtkurven. Indien geen lichtregulatie optrad, werd de gemiddelde opgeloste produktie beschouwd als zijnde maximaal. Voor Oostende vinden we een gemiddelde van $40 \text{ mgC/m}^3/\text{h}$, voor Calais $22 \text{ mgC/m}^3/\text{h}$ en voor Hansweert eveneens $22 \text{ mgC/m}^3/\text{h}$. De excretie in absolute waarde uitgedrukt, is dus veel belangrijker in eutroof gebied dan in oligotroof en estuarien milieu. van de totale productie In percentage uitgedrukt, is dit het omgekeerde. Deze tendens werd door andere onderzoekers eveneens waargenomen (Thomas '71, Berman-Holm Hansen '74 en Anderson-Zeutschel '70).
- Ook blijkt er een seizoensgebondenheid van de opgeloste produktie op te treden. Namelijk voor Oostende en Calais stijgt de excretie in absolute waarde gevoelig rond begin mei, om terug te dalen rond juni. Ook hier moet rekening gehouden worden met de te hoge t_0 background. Deze is hier vermoedelijk verantwoordelijk voor de extreem hoge excretiewaarden. De bovenstaande conclusies steunen op te weinig gegevens, die bovendien beïnvloed werden door tot nu toe nog onduidelijke factoren.

C) Respiratie van het fytoplankton.

NIJS J.

NIHOUL C.

Een van de vooropgestelde hypothesen in de ongelijke balans tussen produktie en konsumptie is, dat de fytoplanktonische ademhaling (fotorespiratie en donkerrespiratie) onderschat werd, waaruit volgt dat ook de bruto primaire produktie onderschat werd.

Om het probleem van de fotorespiratie en dat van de donkerrespiratie op te lossen, werd gezocht naar technieken om beiden te bepalen.

Tot nog toe werd, in een eerste fase, tijdens een drietal kruisvaarten „Organische Stoffen", geprobeerd de donkerrespiratie van het fytoplankton te bepalen. Een techniek om fotorespiratie te bepalen wordt uitgetest.

Voorts worden proeven met axenische en niet-axenische fytoplanktonkulturen in het vooruitzicht gesteld.

Om de donkerrespiratie te meten, werd het fytoplankton in semi-situ in het licht geïnkubeerd met $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ om aldus toe te laten dat de cellen ^{14}C als organische stoffen incorporeren. Na de inkubatie werd de overmaat $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ weggewassen met saline wash door middel van centrifugatie. Tijdens het wassen werd ook de in het licht gevormde excretie verwijderd.

Na het wassen van de cellen werden ze in het donker gezet en de vermindering van de geïnkorporeerde radio-

aktiviteit in de partikulaire primaire produktie in functie van de tijd werd bepaald.

resultaten: zie tabel

De donkerrespiratie werd berekend aan de hand van de initiële dalingssnelheid van de partikulaire primaire produktie in het donker (dus na verwijdering van de overmaat $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ en de in de lichtfase gevormde excretie). In geen van de gedane proeven werd er een stijging van de excretie in het donker in functie van de tijd (120') gemeten.

De waarden voor de fytoplanktonische ademhaling die we bekwamen liggen hoog als we ze vergelijken met de waarden bekomen voor de totale planktonische ademhaling die weergegeven zijn in het verslag „Organische Stoffen” (metingen 1977-1978).

Deze laatste liggen meestal een faktor 10 lager behalve voor de kustzone. De waarden voor de totale ademhaling gemeten door de initiële snelheid van zuurstofverbruik in 1979 blijven in dezelfde grootteorde.

Gezien onze reeks metingen van 1979 een eerste op punt stelling van de methode betekenden, zouden we verdere bespreking van de resultaten willen voorbehouden tot er een groter aantal metingen is uitgevoerd en andere kinetieken o.a. in het licht zijn gedaan.

De vooruitzichten van het verdere programma op de verschillende stations zijn:

- 1) bepaling van de fotorespiratie door middel van kinetieken op korte tijden.
- 2) bepaling van de donkerrespiratie door middel van kinetieken op korte tijden.
- 3) bepaling van de fotorespiratie in functie van de lichtintensiteit.
- 4) bepaling van een eventueel verband tussen de respiratie in functie van de lichtintensiteit en de excretie (in samenwerking met Bertels A.)

D. CONCLUSIE

In functie van de bruto primaire productie bepalingen in $\text{mgC/m}^2/\text{dag}$ werden, steunend op het percentage gemeten respiratie bekomen uit reële respiratiemetingen, de respiratie waarden van tabel 3 berekend in functie van de overeenkomstige partikulaire en opgeloste produktie.

In tabel 2b werd getracht een C-budget van de partikulaire, opgeloste productie en respiratie in $\text{mgC/m}^2/\text{dag}$ te geven. Daar de bovenstaande gegevens op te weinig resultaten berusten die ddarenboven aan nog onduidelijke factoren ondehevig zijn, moeten deze met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd worden. Hetzelfde geldt voor de grafieken 1-2.

april						mei			juni		
	% respiratie t.o.v. PPP	respiratie mgC/m ³ /h	% respiratie t.o.v. PPP	respiratie mgC/m ³ /h	% respiratie t.o.v. PPP	respiratie mgC/m ³ /h	% respiratie t.o.v. PPP	respiratie mgC/m ³ /h	% respiratie t.o.v. PPP	respiratie mgC/m ³ /h	
Oostende	132	58,90	192	72,34	119	4,69					
Calais	117	19,14	194	66,66	216	27,24					
Hansweert	67	14,99	62	43,66	33	57,10					

Tabel 2a.

Datum	Diepte	Chl.a	Corr. coëf.	I_k	$k = \frac{P_{opt.}}{\phi \cdot chl.a}$	$1/k$	$\alpha = \frac{k_{opt.}}{I_k}$	$P_{opt.}$	Part. Prod./ dag
	m	mg/m ³		J/cm ² /h				mgC/m ³ /h	mgC/m ² /d.

Oostende									
2-4	3	1.79	0.87	8	1.73	0.58	0.22	26.60	327
3-5		0.45	0.99	25.30	4.26	0.23	0.17	88.51	4361
21-5		0.67	0.99	7.5	3.22	0.31	0.43	27	1066
25-6		0.46	0.79	16.00	6.03	0.17	0.38	12.97	672
10-9		0.49	-	-	-	-	-	-	-
Calais									
3-4	3	0.50	0.91	20	3.27	0.31	0.16	2.75	98
22-5		0.31	0.87	17.50	2.56	0.39	0.15	26.50	1938
26-6		0.40	0.93	24	5.50	0.18	0.22	20.09	630
11-9		0.28	0.88	22.50	1.72	0.58	0.08	2.36	149
Hansweert									
4-4	3	5.45	0.74	19.50	0.63	1.5	0.03	6.3	23
4-5		2.09	0.75	20	2.82	0.35	0.14	54	493
23-5		1.34	0.99	42	2.95	0.34	0.07	36.40	262
27-6		1.26	0.93	37.50	6.93	0.14	0.18	184.60	2936
12-9		2.27	0.98	9.00	3.31	0.30	0.37	19.58	205

									$\bar{m} = 1607$
									$\bar{m} = 704$
									$\bar{m} = 784$

Tabel 2b.

Datum	Opgeel. pp/ dag mgC/ m ² / d.	Resp./ dag mgC/ m ² / d.	Part. Prod./ dag mgC/ m ² / d.

Oostende			
2-4	-	366	327
3-5	4376	-	4361
21-5	3401	842	1066
25-6	-	1081	672
10-9	205	-	-
	$\bar{m} = 2661$	$\bar{m} = 763$	$\bar{m} = 1607$
Calais			
3-4	1149	118	98
22-5	4377	2209	1938
26-6	-	2407	630
11-9	-	-	149
	$\bar{m} = 2763$	$\bar{m} = 1578$	$\bar{m} = 704$
Hansweert			
4-4	101	22	23
4-5	297	-	493
23-5	-	278	262
27-6	469	147	2936
12-9	-	-	205
	$\bar{m} = 289$	$\bar{m} = 149$	$\bar{m} = 784$

Tabel 3.

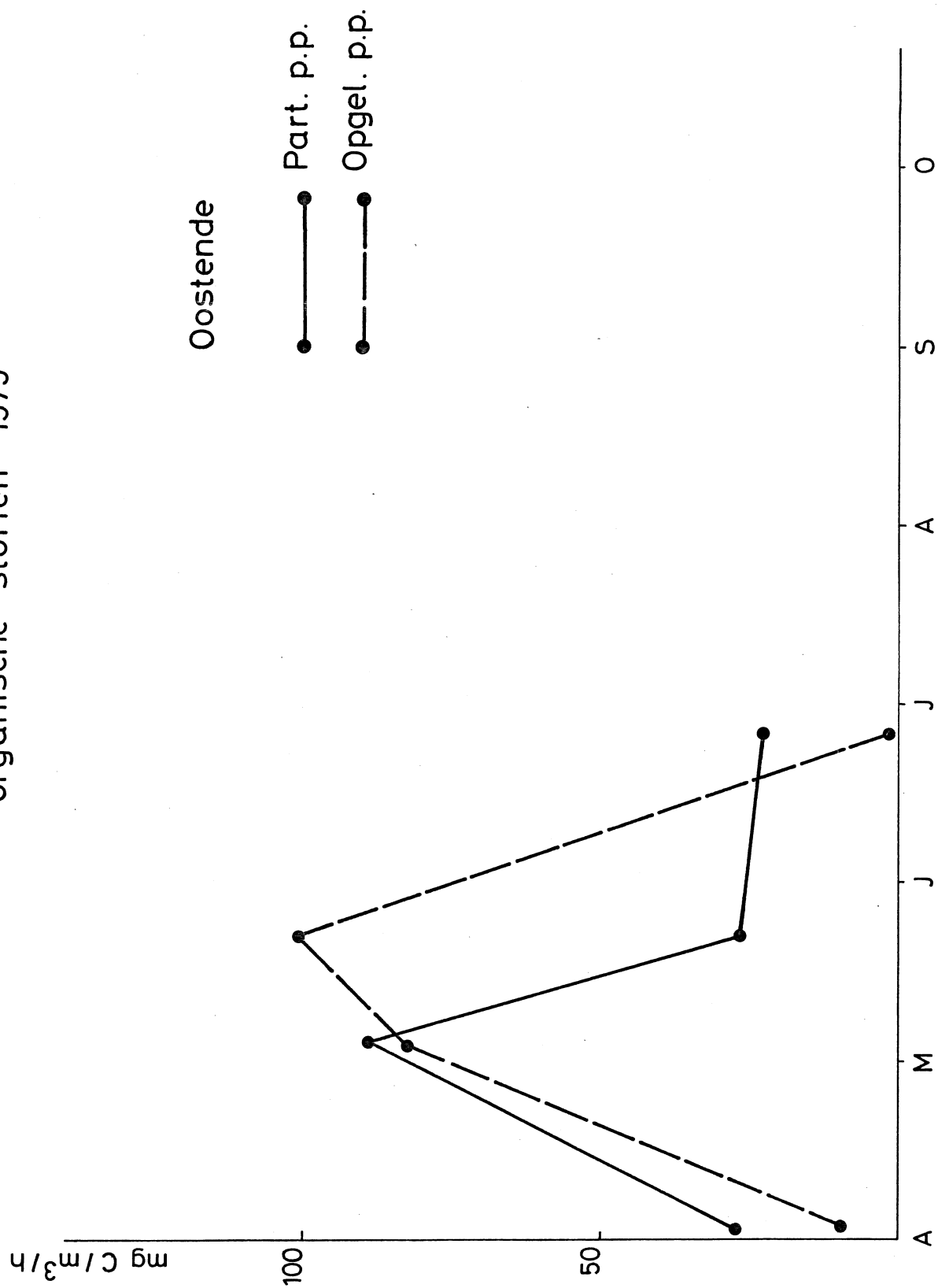
Datum	Chl.a mg/ m ³	Part.pp. mgC/ m ³ / h	Opgel.pp. mgC/ m ³ / h	E %	Respiratie mgC/ m ³ / h	R %	Lichtafh. v.opgel. p. J/ cm ² / h	PAR/ J/ cm ² / h

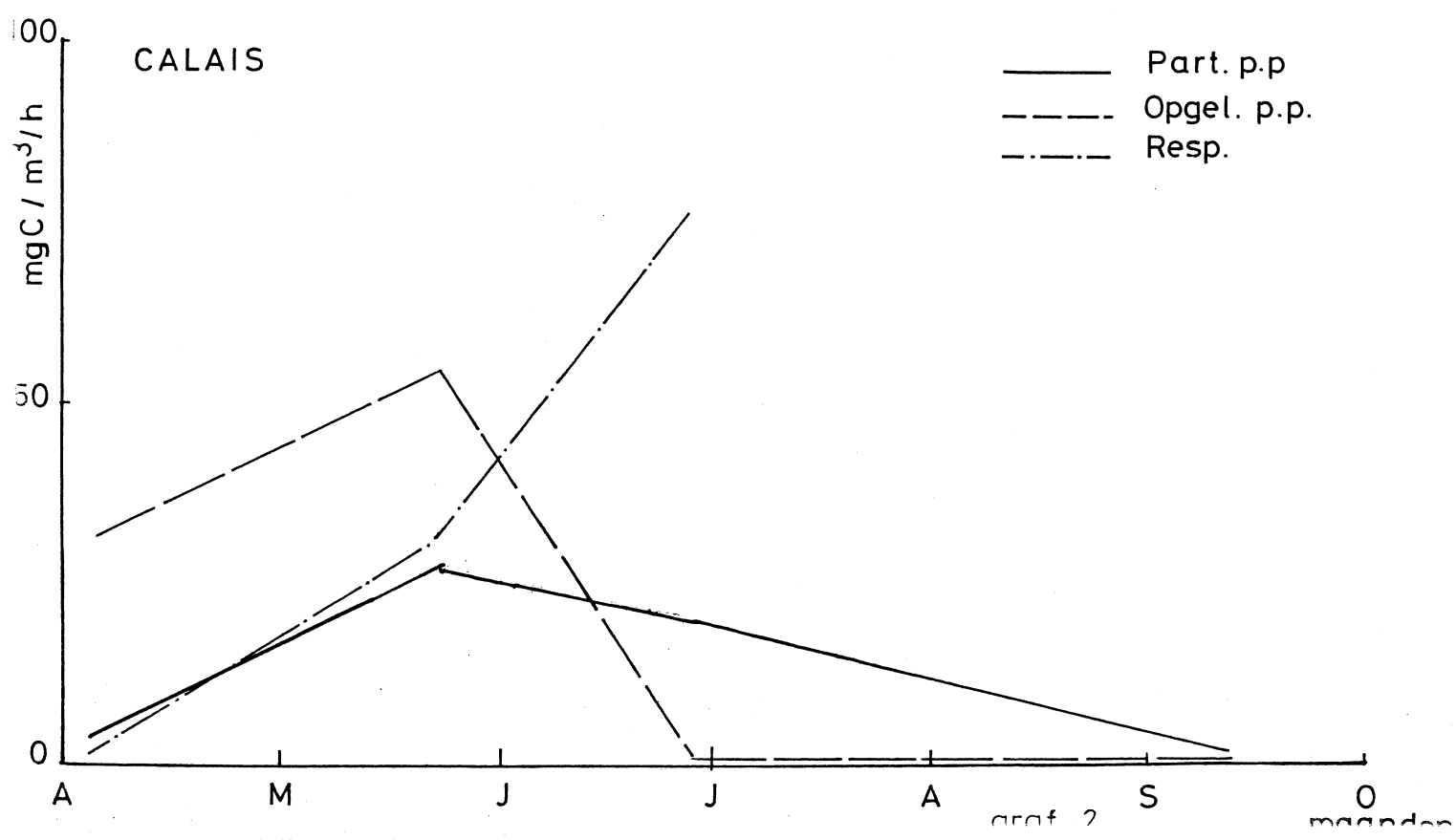
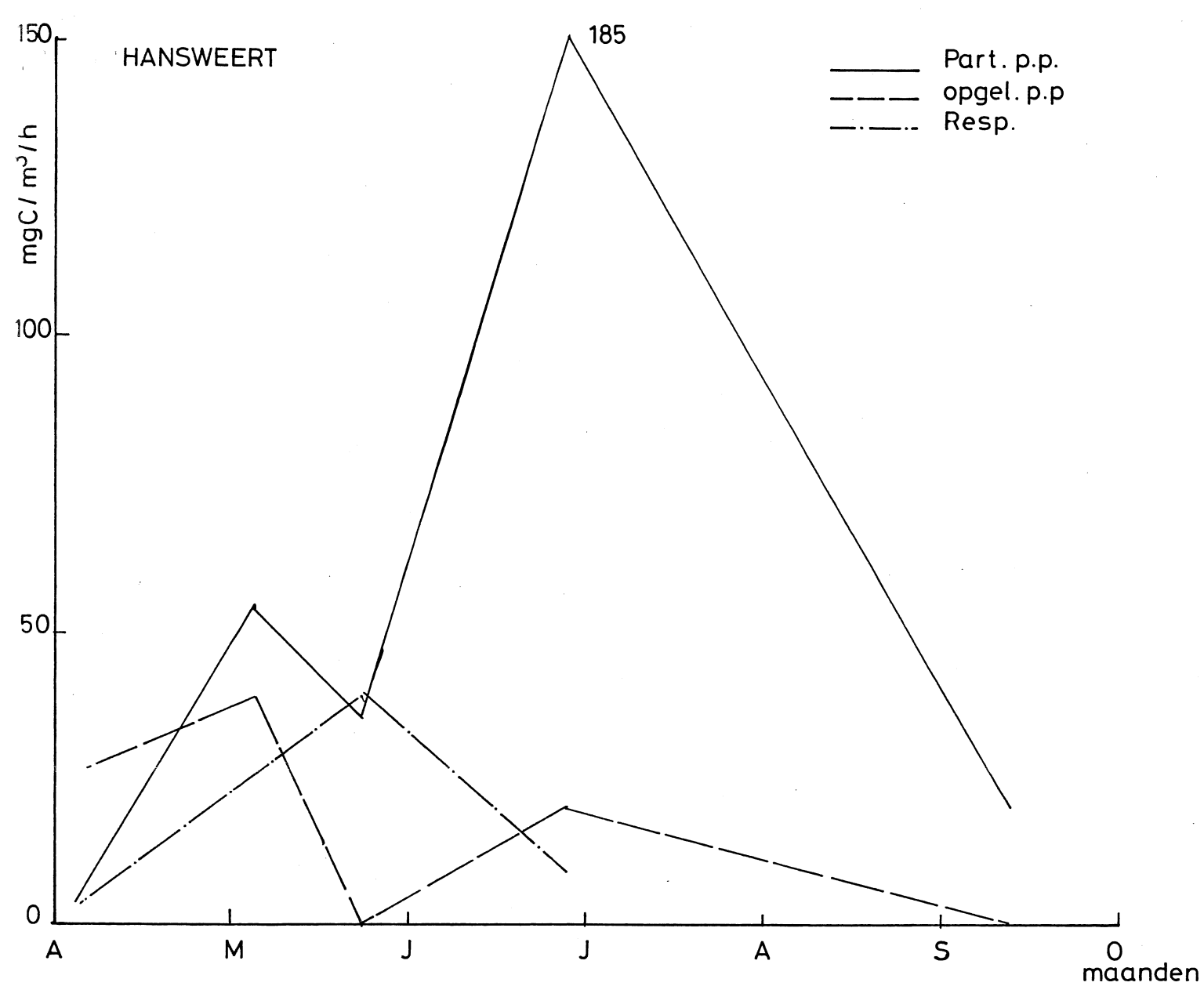
Oostende								
2-4	1.79	27	10	36	30	112	-	
3-5	0.45	89	83	48	-	-	+	20
21-5	0.67	27	101	79	21	79	+	12
25-6	0.46	13	1	7	21	161	-	
10-9	0.49	-	4		-		-	
				$\bar{m} = 39$	$\bar{m} = 40$	$\bar{m} = 51$		
Calais								
3-4	0.50	3	32	92	3	102	+	18
22-5	0.31	27	54	67	31	114	+	14
26-6	0.40	20	0	0	76	382	-	
11-9	0.28	2	0	0	-	-	-	
				$\bar{m} = 13$	$\bar{m} = 22$	$\bar{m} = 63$		
Hansweert								
4-4	5.45	6	27?	81	6	96	+	16
4-5	2.09	54	39	42	-	-	+	25
23-5	1.39	36	neg.	-	38	106	-	
27-6	1.26	185	20	10	9	5	-	
12-9	2.27	20	0	0	-	-	-	
				$\bar{m} = 69$	$\bar{m} = 22$	$\bar{m} = 24$		

+ : Positieve lichtafhankelijkheid van de opgeloste primaire produktie.

- : Lichtonafhankelijkheid.

Partikulaire en opgeloste primaire produktie verloop tijdens de kruisvaarten organische stoffen 1979





Kinetiek van de partikulaire en opgeloste primaire productie

4 x 10³

Part. p.p.

Opgel. p.p.

dpm / 50ml

Calais 3 - 4 - 1979

licht
donker

4 x 10⁴

0.5

1

2

3

4

5

6 uren

uren

1

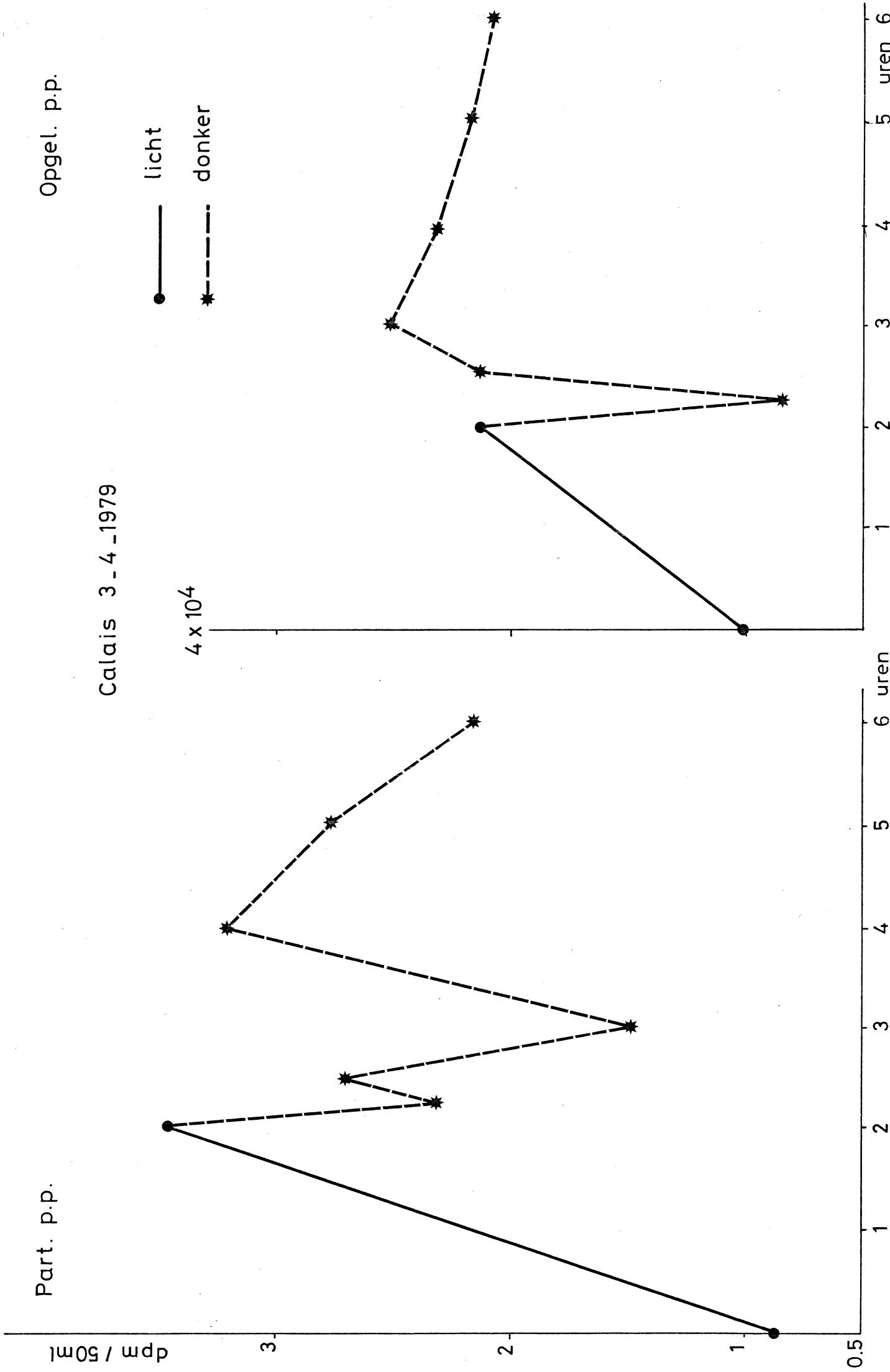
2

3

4

5

6 uren



REFERENTIES.

- ANDERSON, G.C., and R.P. ZEUTSCHEL. 1970
Limnol. Oceanogr. 15/ 402-407.
- BERMAN, T. and HOLM-HANSEN. 1974
Mar. Biol. 28:305-310.
- THOMAS, J.P. 1971.
Mar. Biol.:11: 311-323.

Annexe 2:

Particulate matter in the Southern Bight of the North Sea

Ch Lancelot, laboratoire d'Océanographie ULB

L. Goeyens, Laboratorium Analytische Scheikunde VUB

This paper not to be cited without the authorization of the
authors

PARTICULATE MATTER IN THE SOUTHERN BIGHT OF THE NORTH SEA

C. Lancelot, Laboratoire d'Océanographie, U.L.B.

L. Goeyens, Laboratorium Analytische Scheikunde, V.U.B.

1. INTRODUCTION

In this paper we report chemical analyses of suspended matter collected at Calais, Ostend and Hansweert. Those three stations are respectively characteristic for an open-sea biotope, a coastal biotope and an estuarine one.

The analyses deal with total particulate carbon and nitrogen and the biochemical compounds : chlorophyll a, proteins, carbohydrates and lipids.

The total particulate carbon exists for a small part of inorganic carbon, mostly CaCO_3 , which was not determined experimentally.

The inorganic carbon content was estimated by literature data.

Most attention, however, was paid to the particulate organic matter, which includes living microorganisms (mainly phytoplankton and bacteria, microzooplankton in some cases) and organic detritus either endogenous or exogenous. The importance of the exogenous material is dependent from biotopes ; it can be predominant in estuarine and coastal waters. Endogenous detrital matter includes debris of dead organisms deriving from the marine food chain but also detritus formed in situ through a complex equilibrium dissolved organic matter $\rightleftharpoons$ particulate organic matter.

No simple mechanical system exists actually to separate the different fractions of the particulate organic matter as defined above. The statistical analysis allows in some particular cases a quantification of the phytoplankton on the one hand, and of the detritus and bacteria on the other (Lancelot, 1980).

The chemical nature of the total particulate organic matter is very complex in consideration of its various sources but only a part of the total will be available for the growth of particle feeders. The nutritive qualities of the total particulate organic matter may be deduced from its gross biochemical composition (proteins, carbohydrates, lipids).

2. METHODS

2.1. Total carbon analysis

With a COULOMAT 701 LI carbon is transformed to carbon dioxide in an oxygen stream at high temperature. This CO_2 is determined by a coulometric titration.

All the CO_2 from the combustion of organic and inorganic matter is pumped into a $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$ -solution, where it causes a decrease of the alkalinity. This decrease of alkalinity is cancelled by the electrolytic formation of $\text{Ba}(\text{OH})_2$.

The electric stream necessary for the formation of $\text{Ba}(\text{OH})_2$ gives, by application of the Faraday-law, a direct measure of the quantity of CO_2 and thus of the carbon content.

Sulphuroxides and halogenoxides are eliminated from the gas stream by silverwool at 500°C .

2.2. Total nitrogen analysis

Nitrogen concentrations are determined by a classic automated ammonia determination after a micro-kjeldahl destruction of the solid samples (Bietz, 1974).

The destruction is performed with H_2SO_4 and a catalyst composed of K_2SO_4 and Hg O .

To check the recovery of the destruction, the results were calculated against known standards of $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ and against known quantities of aspartic acid. An excellent agreement has been obtained.

2.3. Biochemical compounds

- Chlorophyll a -

Extraction was done with acetone 90% and spectrophotometric measurement took place at the chlorophyll a red maximum wavelength (663 nm) before and after acidification with HCl-I N (Lorenzen, 1967). This method allows a quantitative measurement of chlorophyll a and of chlorophyllide a on the one hand and of phaeophytin a and phaeophorbide a on the other hand. These last three molecules are in fact the degradation products of chlorophyll a.

Quantitative measurements of proteins in solution were performed with the Folin-Cociliateu reagent (Hewitt, 1958). For total carbohydrates, a modified form of the phenol-acid sulphuric method of Dubois et al. (1956) was used. Total lipids were extracted with a chloroform-methanol solution. The extracted lipids were carbonized with concentrated sulphuric acid ; the quantity of carbon was spectrophotometrically measured (March & Weinstein, 1966).

3. RESULTS

Table I : Total carbon and nitrogen contents of suspended matter.

Samples		Total suspended matter (mg/l)	Total particulate carbon (µg/l)	Total particulate nitrogen (µg/l)	C/N
CALAIS	03.04.79	10.3	619.0	37.1	16.7
	22.05.79	4.2	386.4	58.0	6.7
	26.06.79	1.6	166.2	21.1	7.9
OSTEND	02.04.79	7.6	765.3	69.2	11.1
	03.05.79	7.8	941.5	136.5	6.9
	21.05.79	6.9	899.1	105.6	8.5
	25.06.79	3.3	328.0	37.6	8.7
HANSWEERT	04.04.79	115.9	8031.9	556.3	14.4
	04.05.79	11.4	867.5	76.4	11.4
	23.05.79	14.1	1009.6	93.1	10.8
	27.06.79	66.8	4108.2	394.1	10.4
CALAIS	Mean value	5.4	390.5	38.7	10.4
	Minimum	1.6	166.2	21.1	6.7
	Maximum	10.3	619.0	58.0	16.9
OSTEND	Mean value	6.4	733.5	87.2	8.8
	Minimum	3.3	328.0	37.6	6.9
	Maximum	7.8	941.5	136.5	11.1
HANSWEERT	Mean value	52.1	3504.3	280.0	11.8
	Minimum	11.4	867.5	76.4	10.4
	Maximum	115.9	8031.9	556.3	14.4

Table II : Biochemical composition of the particulate organic matter.

Samples		Chlorophyll a		Proteins		Carbohydrates		Lipids	
		µg/l	µgC/l	µg/l	µgC/l	µg/l	µgC/l	µg/l	µgC/l
CALAIS	03.04.79	1.08	0.82	105	315	120	48	150	113
	22.05.79	6.7	5.09	360	108	307	123	67	50
	26.06.79	2.18	1.65	229	69	171	68	33	25
OSTEND	02.04.79	9.5	7.22	470	140	234	94	20.7	155
	03.05.79	16.5	12.6	823	247	934	374	181	136
	21.05.79	6.07	4.6	447	134	824	330	164	123
	25.06.79	2.18	1.65	155	46.4	180	72	32	24
HANSWEERT	04.04.79	8.7	6.61	2359	708	1740	696	708	531
	04.05.79	10	6.84	519	156	383	151	118	88
	23.05.79	8.18	6.21	489	147	177	71	105	79
	27.06.79	24.7	18.8	1458	437	788	315	365	274
CALAIS	Mean value	3.6	2.7	231	70	200	80	83	62
	Minimum	1	0.8	105	31	120	48	33	25
	Maximum	6.7	5.1	360	108	307	123	150	113
OSTEND	Mean value	8.6	6.5	474	142	543	217	146	109
	Minimum	2.2	1.65	155	46	180	72	32	24
	Maximum	16.5	12.6	823	247	934	374	207	155
HANSWEERT	Mean value	13	10	1206	362	772	309	324	243
	Minimum	8.2	6.2	490	147	177	71	105	79
	Maximum	24.7	18.8	2360	708	1740	696	708	531

Table III-a : Biochemical composition of phytoplankton and bacterio-detritus at Ostend.

Samples	Phytoplankton						Bacterio-detritus					
	Prot. µg/l	CarboH. µg/l	Lip. µg/l	C µgC/l	N µgN/l	C/N	Prot. µg/l	CarboH. µg/l	Lip. µg/l	C µgC/l	N µgN/l	C/N
02.04.79	465	257	76	306	42	7.3	5	23	131	109	0.45	242
03.05.79	808	446	132	551	73	7.6	15	488	49	236	1.35	175
21.05.79	360	264	174	344	32	10.6	87	560	0	250	8	32
25.06.79	132	97	64	128	12	10.8	23	83	0	40	2	19

02.04.79 C bioch. = 0.74 phyt. + 0.26 det. N prot. = 0.99 phyt. + 0.01 det.
 03.05.79 C bioch. = 0.70 phyt. + 0.30 det. N prot. = 0.98 phyt. + 0.02 det.
 21.05.79 C bioch. = 0.58 phyt. + 0.42 det. N prot. = 0.80 phyt. + 0.2 det.
 25.06.79 C bioch. = 0.76 phyt. + 0.34 det. N prot. = 0.86 phyt. + 0.14 det.

Table III-b : Biochemical composition of phytoplankton and bacterio-detritus at Hansweert.

Samples	Phytoplankton						Bacterio-detritus					
	Prot. µg/l	CarboH. µg/l	Lip. µg/l	C µgC/l	N µgN/l	C/N	Prot. µg/l	CarboH. µg/l	Lip. µg/l	C µgC/l	N µgN/l	C/N
04.04.79	426	256	70	283	38	7.4	1933	1484	638	1652	174	9
04.05.79	490	270	80	315	44	7.1	29	113	38	82	3	31
23.05.79	402	177	66	241	36	6.7	87	0	39	55	8	7
27.06.79	1210	667	198	778	109	7.1	248	121	167	248	22	11.3

04.04.79 C bioch. = 0.15 phyt. + 0.85 det. N prot. = 0.18 phyt. + 0.82 det.
 04.05.79 C bioch. = 0.79 phyt. + 0.21 det. N prot. = 0.94 phyt. + 0.06 det.
 23.05.79 C bioch. = 0.80 phyt. + 0.20 det. N prot. = 0.82 phyt. + 0.18 det.
 27.06.79 C bioch. = 0.75 phyt. + 0.25 det. N prot. = 0.83 phyt. + 0.17 det.

4. DISCUSSION

4.1. Total carbon and total nitrogen in the particulate matter

The C/N-ratios seem to vary in a similar way at the three stations, having the highest value in April and apparently the lowest value at the moment of phytoplankton bloom. This, as well as the range of the values, seems very well acceptable, but anyway for comparison with literature data one needs more especially the total organic carbon contents instead of the total carbon contents of the particulate matter.

4.2. Estimation of the inorganic carbon content and calculation of the total organic carbon for the three stations

4.2.1. Hansweert

Different data about the composition of suspended matter in the Scheldt and about weightlosses at 550°C - 1000°C (Wollast, 1973 and 1976) made it possible to calculate that 100 g of suspended matter contain meanly 1.45 g inorganic carbon (present as CaCO_3). The difference of the total carbon value and this value is proposed as the total organic carbon content.

4.2.2. Calais and Ostend

The amount of inorganic carbon is of great importance, especially in the North Atlantic Ocean (Chester and Stones, 1974) but generally an approach is given (Krishnaswami, Lal and Somayajulu, 1976 ; Krishnaswami and Lal, 1977) rather than concrete values. Several data about the inorganic carbon content of suspended matter in surface waters (Wangersky and Gordon, 1965) made it possible, however, to estimate the amount of inorganic carbon at 11.2% of the total particulate carbon. For our purpose this value is taken to calculate the amount of organic carbon present in the suspended matter. All the values are brought together in table IV.

Table IV : Comparison of total organic carbon and biochemical carbon concentrations

Samples		Total organic carbon µgC/l	Biochem. carbon µgC/l	Biochem. carbon %	POC/PN
CALAIS	03.04.79	551	129	36	14.9
	22.05.79	344	286	83	5.9
	26.06.79	148	164	100	7.0
OSTEND	02.04.79	681	396	58	9.8
	03.05.79	838	770	92	6.1
	21.05.79	850	592	70	8.0
	25.06.79	292	144	49	7.8
HANSWEERT	04.04.79	6351	1941	31	11.4
	04.05.79	703	402	57	9.2
	23.05.79	806	303	38	8.7
	27.06.79	3139	1045	33	8.0
CALAIS	Mean value	348	215	62	9.3
	Minimum	148	164		5.9
	Maximum	551	286		14.9
OSTEND	Mean value	665	476	71	7.9
	Minimum	292	144		6.1
	Maximum	838	770		9.8
HANSWEERT	Mean value	2750	923	34	9.3
	Minimum	703	303		8.0
	Maximum	6351	1941		11.4

4.3. Variation of the POC/PN-ratio

In spite of the very small number of values we tried to evaluate the correlation between POC and PN for the three biotopes. The equations, calculated by the method of least squares, are as follows :

- for Calais : $C = 171 + 4.6 N$; $R = 0.42$
- for Ostend : $C = 193 + 5.4 N$; $R = 0.90$
- for Hansweert : $C = -321 + 11.0 N$; $R = 0.97$

There exists apparently a good linear correlation between C - and N - concentrations at the stations Ostend and Hansweert. For the station Calais (only 3 values are taken into account) there seems to be no relation. Nevertheless the equations indicate a clear analogy for the stations Calais and Ostend. The slopes, as well as the ordinates at the origin, are very similar and besides that they are in good agreement with correlation values calculated for oceanic waters (Copin-Montegut, 1978). On the other hand, the characteristics of the Hansweert-equation are totally different. Most remarkable is the large value for the slope ; the negative value of the ordinate at the origin has probably much less importance while in this estuarine station never low levels of N and/or C concentrations are encountered.

4.4. Biochemical carbon with reference to total organic carbon

4.4.1. Seasonal and geographical variations of biochemical compounds

Seasonal variations of the different metabolites (chlorophyll a, proteins, carbohydrates and lipids) measured during the phytoplankton and zooplankton blooms are in good agreement with previous results. Table II shows an increase of the biochemical stock in the direction open-sea → coastal → estuarine waters.

4.4.2. Biochemical carbon and total organic carbon

Biochemical carbon was expressed from the major nutritives compounds. Each compound was respectively converted in weight of carbon (Table IV). Table IV shows that the biochemical compounds represent on an average about 65% of the total organic carbon in the marine waters. Range values are in good agreement with similar experiments of Parsons and Strickland (1962) accomplished in the Northeastern Pacific Ocean. These authors

find 50 to 97% of the total organic carbon in the biochemical compounds. On the contrary, biochemical carbon represents only 35% in the Scheldt estuary. This difference can be attributable to the greater part of exogenous imports in the estuary. This is partly confirmed by the weak correlation between chlorophyll a and total organic carbon compared to the high significative correlation between chlorophyll a and biochemical compounds, also in the estuary.

This high correlation indicates that major nutritive compounds are mainly on the dependence of phytoplankton in the Southern Bight of the North Sea. The estimation of the phytoplankton biomass alone, calculated with statistical parameters as defined previously (Lancelot, 1980), shows that the detrital biochemical carbon does not be greater than 40% in marine waters (Table III). One case excepted (04.04.79), detrital biochemical carbon was not very abundant in the estuary (about 25%).

This table shows on the other hand that detrital biochemical carbon include mainly carbohydrates that consequently increase the ratio carbon/nitrogen of the total biochemical matter. This result confirms that proteins are quicklier ingested by particle feeders than carbohydrates.

Furthermore, two main questions stay unresolved :

1. What is the chemical nature of the organic carbon not included in the biochemical compounds ?
2. Are these molecules available for predators ?

The chemical nature of the detrital organic carbon not included in the biochemical compounds depends on the origin of this material. Endogenous detrital organic carbon includes resistant parts of the organisms, as cell wall of phytoplankton, chitineous exoskeletons of zooplankton and precipitated humic substances formed by polyphenols and degraded products of proteins and carbohydrates. Because of the presence of phenol, this detrital matter is little or not biodegradable.

On the other hand, the origin of the difference between organic carbon and biochemical carbon can be due to terrigenous imports (cfr Table IV). The chemical nature-and so the availability for heterotrophes-of these organic molecules is probably very diverse, depending especially on domestic and/or industrial uses.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank the members of the Navy for their assistance with sampling and especially Mr A. Vandenhoudt, V.U.B., for his help by the practical realisation of the experiments.

REFERENCES

- 1) BIETZ, J.A., 1974, Micro-kjeldahl analysis by an improved Automated Ammonia Determination following manual digestion, *Analytical Chemistry*, 46, 1617-1618.
- 2) CHESTER, R. and STONES, J.H., 1974, The distribution of particulate organic carbon and nitrogen in some surface waters of the world ocean, *Marine Chemistry*, 2, 263-275.
- 3) COPIN-MONTEGUT, C. and COPIN-MONTEGUT, G., 1978, The chemistry of particulate matter from the South Indian and Antarctic Ocean, *Deep-Sea Research*, 25, 911-931.
- 4) DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, S.K., REBERS, P.A. and SMITH, F., 1956, Colorimetric method for determination of sugar and related substances, *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- 5) HEWITT, B.R., 1958, Spectrophotometric determination of protein in alkaline solution, *Nature*, 182, 246.
- 6) KRISHNASWAMI, S., LAL, D. and SOMAYAJULU, B., 1976, Investigations of gram quantities of atlantic and pacific surface particulates, *Planetary Science Letters*, 32, 403-419.
- 7) KRISHNASWAMI, S. and LAL, D., 1977, Particulate organic carbon in Atlantic surface waters, *Nature*, 266, 713-716.
- 8) LANCELOT-VAN BEVEREN, Ch., 1980, A statistical method to estimate the biochemical composition of phytoplankton in the Southern Bight of the North Sea, *Estuarine and Coastal Marine Science*, 10, 1-12.
- 9) LORENZEN, 1967, Determination of chlorophyll and phaeopigments : spectrophotometric equations, *Limnology and Oceanography*, 12, 343-347.
- 10) MARSH, J.B. and WEINSTEIN, 1966. A simple charring method for the determination of lipids, *J. Lip. Res.*, 7, 574-576.

- 11) PARSONS, T.R. and STRICKLAND, J.B.H., 1962, Oceanic detritus, Science, 136, 313.
- 12) WANGERSKY, P. and GORDON, D., 1965, Limnology and Oceanography, 10, 544-550.
- 13) WOLLAST, R., 1973, Rapport de synthèse, Origines et mécanismes de l'envasement de l'estuaire de l'Escaut.
- 14) WOLLAST, R., 1976, Rapport final - Projet Mer, vol. 10.

Annexe 3

Composition biochimique de 3 classes de taille de la matière
organique particulaire

Ch Lancelot, Laboratoire d'Océanographie ULB

COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE 3 CLASSES DE TAILLE DE LA MATIERE ORGANIQUE PARTICULAIRE

Ch. LANCELOT

La matière organique particulaire dans son ensemble (phytoplancton + bactério-detritus) constitue la nourriture des organismes filtrants (zooplancton principalement). L'ingestion étant notamment liée à la capacité de filtration des prédateurs, 3 classes de taille de particules ont été analysées quant à leur contenu en éléments nutritifs majeurs (protéines, hydrates de C, lipides) afin de déterminer si chacun des groupes peut satisfaire les exigences alimentaires des prédateurs. Les résultats sont reportés dans le tableau I. Comparés aux activités de grazing mesurées simultanément sur les 3 classes de taille choisies (N. Daro), ils seront discutés de manière plus approfondie dans le rapport zooplancton.

COMMENTAIRES

Un examen préliminaire des résultats montre que protéines, hydrates de C et lipides se répartissent différemment dans les 3 classes de taille suivant la saison et le milieu échantillonné. L'apport calorifique que représente chacune des classes de particules reste cependant quasi inchangé (11.5 cal/mgC en moyenne) quel que soit le biotope et la saison.

La distribution de la chlorophyll *a* dans les 3 classes de taille illustre la distribution saisonnière des espèces phytoplanctoniques dominantes (Tableau II) bien que le processus de séparation utilisé ait pu donner lieu à des ruptures de chaînes de diatomées et/ou d'amalgames formés de flagellés. Ainsi le bloom phytoplanctonique se caractérise par la domination de petites espèces (*leptocylindrus* isolés ou en chaînes et flagellés). Les grandes espèces n'apparaissent que plus tard (*biddulphia*, *chaetoceros*...).

Il est malheureusement exclu de mettre la composition biochimique mesurée dans chacune des classes de taille en relation avec les espèces phytoplanctoniques dominantes car un apport détritique, si minime soit-il, peut fortement influencer l'interprétation des résultats.

Cependant l'interférence de la matière détritique a pu être levée à Ostende pour les particules $< 25\mu$ et $> 100\mu$ grâce au calcul statistique.

La corrélation significative entre les variations de la chlorophyll *a* et les métabolites biochimiques indique que les cellules phytoplanctoniques contrôlent le contenu biochimique des petites et grandes particules. Le calcul des régressions linéaires montre d'autre part un comportement physiologique différent selon que le phytoplancton appartienne à la classe < 25 ou $> 100\mu$. La différence se marque d'une part dans la synthèse des métabolites (taux plus élevé d'hydrate de C que de protéines pour cellules phytoplanctoniques $< 25\mu$, l'inverse pour les cellules $> 100\mu$) et d'autre part dans le contenu en chlorophyll *a* (taux plus élevé pour cellules $> 25\mu$ ce qui leur confère une plus grande efficience dans l'utilisation de l'énergie lumineuse).

L'absence de corrélation entre chlorophyll *a* et C biochimique au sein des particules de taille intermédiaire pourrait indiquer soit un mélange d'espèces différentes soit une plus grande proportion de détritux de composition variable .

Il est d'autre part à remarquer que certaines classes de taille sont dépourvues de cellules phytoplanctoniques (chlorophyll *a* = 0). Il s'agit toujours de particules de taille > 25 μ . Bien que généralement peu abondante, la quantité de matière organique associée à ces particules représente un apport calorifique non négligeable. L'examen de leur composition biochimique montre qu'ils sont généralement formés d'importantes quantités d'hydrates de C.

CONCLUSION

L'ensemble des données récoltées montre que, quelle que soit la taille des particules ingérées, leur valeur nutritive semble devoir satisfaire les besoins énergétiques des prédateurs. Reste donc la question de l'abondance de C biochimique au sein d'une classe de particules.

COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE 3 COMPOSANTES DE LA MATIERE

ORGANIQUE PARTICULAIRE.

ECHANTILLONS	Chl. a g/l	Proteines g/l	Hydrates C g/l	lipides g/l	C.bioch. g/l	N.prot. g/l	C/N (poids)	Cal. mgC
<u>CALAIS</u>								
030479								
p<25μ	0.73	115	50	-	-	10.3	-	-
25μ< p<100μ	0.40	55	92	-	-	8.3	-	
p>100μ	0	0	0		-	-	-	
220579								
p<25μ	1.5	26	107	22	68	2.3	30	10.9
25μ< p<100μ	3.2	146	102	26	106	13	8.2	11.4
p>100μ	2	189	98	19	112	17	6.6	11.6
260679								
p<25μ	1.4	88	-	-	-	8		
25μ< p<100μ	0	45	-	-	-	4		
p>100μ	0.8	96	-	-	-	8.6		

<u>OSTEND</u>								
020479								
p<25μ	3.64	220	81	64	149	20	7.5	11.7
25μ< p<100μ	5.96	200	133	128	209	18	11	11.7
p>100μ	0	50	20	15	34	45	8	11.9
030579								
p<25μ	8.4	226	367	95	292	20	14.3	11
25μ< p<100μ	2	74	90	10	67	6.7	10	11.2
p>100μ	6.1	523	477	71	401	47	8.5	11.5
210579								
p<25μ	3.6	270	154	71	199	24	8.2	11.5
25μ< p<100μ	0	62	258	4	125	6	21	10.8
p>100μ	2.5	115	412	81	262	10.4	25	11
250679								
p<25μ	1.45	125	100	15	90	11	8	11.4
25μ< p<100μ	0	26	69	10	39	2.3	17	11.2
p>100μ	0.72	10	20	7	17	0.9	19	10.8

COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE 3 COMPOSANTES DE LA
MATIERE ORGANIQUE PARTICULAIRE(2)

ECHANTILLONS	Chl.a g/l	Protéines g/l	Hydrates C g/l	Lipides g/l	C.bioch. g/l	N.prot. g/l	C/N (poids)	Cal. mgC
<u>HANSWEERT</u>								
040479								
p<25 μ	7.6	1496	-	-	-	135	-	
25 μ <p<100 μ	0.4	0				0		
p>100	0.7	860	104	-	-	77		
040579								
p<25 μ	9	306	259	44	236	27.5	8.6	11.2
25 μ <p<100 μ	1.2	108	44	18	64	10	6.4	11.8
p>100 μ	0.4	105	77	56	105	9.5	11	11.6
230579								
p<25 μ	3.4	216	151	25	147	19	7.6	11.11
25 μ <p<100 μ	3	242	26	25	104	22	5	12
p>100 μ	1.8	31	25	55	62	3	20	11.4
270679								
p<25 μ	10.2	676	684	-	-	61	-	-
25 μ <p<100 μ	4.8	187	230	-	-	17	-	-
p>100 μ	10	595	421	-	-	54	-	-

TABLE I : Dominant algal species.

DATUM	SPECIES
a) <u>OSTEND</u>	
020479	<i>leptocylindrus</i> , flagellates
030579	flagellates , <i>leptocylindrus</i>
210579	flagellates almost exclusively
250679	<i>chaetoceros</i>
b) <u>CALAIS</u>	
030479	<i>melosira</i> , <i>fragilaria</i> , <i>coscinodiscus</i>
220579	flagellate <i>coscinodiscus</i>
260679	<i>asterionella</i> <i>coscinodiscus</i>
c) <u>HANSWEERT</u> *	
040479	many detrital particles
040579	<i>leptocylindrus</i>
230579	<i>biddulphia</i> <i>ditylum brightwellii</i>
270679	high diversity
	small species : <i>cyclotella</i> , <i>synedra</i>
	large species : <i>rhizosolenia</i> , <i>coscinodiscus</i> , <i>biddulphia</i> , <i>ditylum brightwellii</i>

* flagellates are too difficult to numerate because of the presence of many detrital particles.

Annexe 4:

Aspects qualitatifs de la production phytoplanctonique
particulaire et dissoute

Ch Lancelot, Laboratoire d'Océanographie ULB

ASPECTS QUALITATIFS DE LA PRODUCTION PHYTOPLANCTONIQUE PARTICULAIRE ET DISSOUTE

Christiane LANCELOT

Le recyclage de la matière organique particulaire et dissoute produite par le phytoplancton est respectivement accompli par le zooplancton et le bactérioplancton. Les activités nutritionnelles de ces micro-organismes dépendent de la nature des métabolites produits de telle sorte que la croissance du zooplancton sera fonction de la composition en protéines, hydrates de C et lipides du phytoplancton, celle du bactérioplancton de la quantité et nature des petits métabolites excrétés par le phytoplancton.

Le présent travail comprend une évaluation des vitesses de formation des différents métabolites cités et leur régulation par les facteurs du milieu extérieur. Des estimations de la consommation hétérotrophe seront également formulées.

1. PRODUCTION PARTICULAIRE

Les vitesses de formation des métabolites majeurs (protéines, hydrates de C et lipides) ont été mesurées par fractionnement biochimique du ^{14}C fixé photosynthétiquement (Tableau I.).

1° Régulation par l'intensité lumineuse

Les vitesses de formation des métabolites ont été mesurées in situ et in semi-situ simultanément pour différentes valeurs

de l'intensité lumineuse. Les variations de l'intensité lumineuse choisies s'échelonnent entre 5 et 100% de la lumière incidente. Les valeurs quasi identiques des constantes de saturation I_k calculées pour chaque courbe production du métabolite-lumière d'une même population (voir exemple Fig. 1) indiquent que les variations de l'intensité lumineuse influencent peu ou pas les proportions relatives des différents métabolites d'une population phytoplanctonique de la baie Sud de la Mer du Nord.

2° Régulation par les nutriments

L'étude des variations saisonnières des proportions relatives des différents métabolites synthétisés par le phytoplancton dans chaque biotope, couplées aux variations simultanées des nutriments majeurs (azote minéral dissous et phosphate) constitue un moyen d'étude de la régulation de la spéciation de la production particulière par les nutriments.

Les résultats, exprimés en % du total fixé sont discutés par rapport aux variations du rapport N/P du milieu extérieur, N étant généralement considéré comme élément limitant de la production phytoplanctonique dans la baie Sud de la Mer du Nord (Fig. 2a).

L'examen de la figure 2a montre que la disponibilité d'un milieu en azote minéral dissous influence surtout les proportions relatives de protéines et d'hydrates de C. La synthèse des lipides, toujours faible (< 20%) varie dans de très petites proportions et plutôt de manière similaire à celle des protéines. La diminution, au cours du bloom phytoplanctonique, de la disponibilité de l'azote minéral dissous, concrétisée par la diminution du rapport N/P conduit à la synthèse d'une quantité plus importante d'hydrates de C, composés probablement de polysaccharides

de réserve β 1 - 3 glucan. L'augmentation de ces derniers a pu en effet être mise en évidence (Tableau II) au cours du bloom phytoplanctonique pour les populations phytoplanctoniques d'Ostende.

échantillons	% GLUCAN
020479	18%
030579	39%
210579	56%

Tableau II.

La limitation de la synthèse protéique par l'azote minéral dissous a pu être mise en évidence d'une part par la stimulation de la synthèse protéique observée lors d'expériences d'enrichissement effectuées sur des populations limitées en azote (Tableau III) et d'autre part par la corrélation significative existant entre le rapport des vitesses de formation des protéines et hydrates de C (P^*/H^*) et le rapport N/P des éléments nutritifs majeurs (Fig. 3).

Il est intéressant de constater que la limitation de la synthèse protéique en milieu marin est effective lorsque $N/P < 8$. Au-delà il semble que le rapport P^*/H^* reste constant (1.4 environ). Ceci doit cependant être considéré avec beaucoup de prudence, le nombre d'échantillons étant peu élevé.

Des résultats similaires sont observés en milieu estuarien pour cependant des rapports N/P du milieu extérieur très élevés et des concentrations en NO_3^- et NH_4^+ de loin supérieures aux constantes michaeliennes caractéristiques des milieux eutrophiés.

La limitation par l'azote minéral dissous pouvant également conduire à un ralentissement ou à une diminution de la synthèse lipidique (Fig. 2a), l'influence globale de cet élément nutritif sur la proportion des métabolites majeurs s'exprime au mieux par les variations du rapport C^*/N^* (1).

La corrélation significative entre les variations des rapports C^*/N^* du phytoplancton et N/P du milieu extérieur (Fig. 4) indique que les proportions relatives des différents métabolites synthétisés par le phytoplancton sont contrôlées par le rapport N/P en milieu marin lorsque $N/P < 7$. Au-delà le rapport C/N du phytoplancton est plafonné à 12.

Des variations similaires du rapport C/N sont observées pour le phytoplancton des milieux estuariens avec toujours des valeurs beaucoup plus élevées du rapport N/P du milieu extérieur.

3° Incidence des variations des vitesses de formation des métabolites phytoplanctoniques sur la composition biochimique de la matière particulaire.

Parallèlement aux mesures de vitesse, le contenu en protéines, hydrates de C et lipides de la matière particulaire a été mesuré pour chaque point échantillonné.

Les résultats, exprimés en % de C biochimique total (Fig. 2b) montrent que dans les milieux marins les changements dans les taux de synthèse des métabolites phytoplanctoniques induisent généralement des changements similaires dans les proportions relatives des métabolites au sein de la matière particulaire totale. Les différences observées, principalement en fin de bloom, seraient donc dues à une utilisation différente des

(1) C^* = somme des vitesses des protéines, hydrates de C, lipides.
 N^* = vitesse de formation des protéines, convertie en azote.

métabolites formés, différence qui peut être mise en évidence par le calcul des taux de renouvellement des métabolites majeurs (Tableau IV). En effet, si on néglige les apports terrigènes dans les milieux marins, les valeurs différentes des taux de renouvellement des protéines, hydrates de C et lipides indiquent une capacité d'utilisation différente de ces substrats chez les organismes prédateurs.

Il n'existe d'autre part aucune similitude entre les fluctuations des métabolites synthétisés par le phytoplancton des milieux estuariens et celles des concentrations. Ceci est dû probablement à l'influence plus ou moins grande des imputs terrigènes.

4° Estimation de la consommation de la matière organique particulière produite par le phytoplancton pendant le bloom de printemps.

Dans le cas présent le terme "consommation" est employé au sens large. Il inclut non seulement la consommation effective par grazing du zooplancton et autres organismes filtrants mais également la perte par sédimentation ou par passage au compartiment dissous après autolyse des cellules phytoplanctoniques mortes ou moribondes.

La consommation des différents métabolites photosynthétisés pendant le bloom phytoplanctonique a pu être estimée à Ostende (où les mesures sont plus complètes) par différence entre les concentrations des métabolites résultant de la production nette et celles effectivement mesurées (Fig.5). L'examen de la figure 5 montre que la quasi totalité des métabolites formés pendant le bloom est consommée à la fin du printemps (respectivement 89%, 79% et 86% pour les protéines, hydrates de C et lipides).

Tableau I : Spéciation de la production particulaire

Echantillons	Protéines	Hydrates C	lipides	N/P
	mgC/m ² jour	mgC/m ² jour	mgC/m ² jour	
OSTENDE				
020479	287	220	128	13
030579	1918	1570	872	7
210579	128	177	56	5
250679	128	193	57	4
CALAIS				
030479	40	57	25	6
220579	301	360	292	2
260679	151	416	93	0.6
HANSWEERT				
040479	6.4	4.3	3	54
040579	195	231	113	44
230579	63	106	35	33
270679	380	1055	541	24

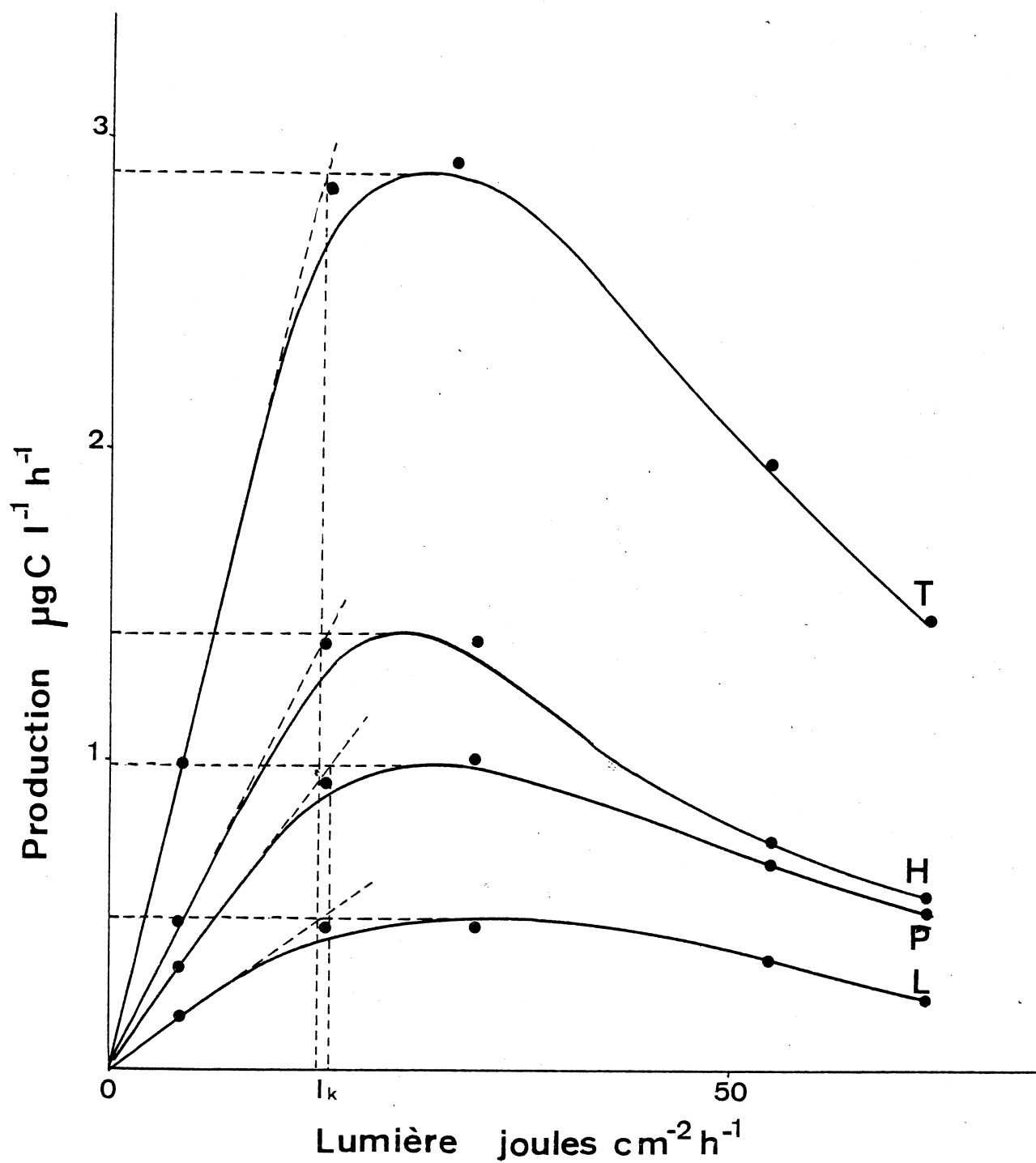
Tableau III : *Expériences d'enrichissements*

Echantillons	Enrichissement	Accroissement du taux de protéines nouvellement syn- thétisées.
		%
<i>OSTENDE</i>		
210579 (N/P = 5)	NH_4^+ (10 μmole)	15%
	NH_4^+ , PO_4^{3-} (11 μmole , 1.4 μmole)	15%
<i>CALAIS</i>		
220579 (N/P = 2)	NH_4^+ (10 μmole)	3%
	NH_4^+ , PO_4^{3-} (11 μmole , 1.4 μmole)	9%
<i>CALAIS</i>		
260679 (N/P = 0.6)	NH_4^+ (10 μmole)	0
	NH_4^+ , PO_4^{3-} (11 μmole , 1.4 μmole)	11%

Tableau IV : Taux de renouvellement journalier des protéines, hydrates de C et lipides.

Echantillons	Protéines jour ⁻¹	Hydrates de C jour ⁻¹	lipides jour ⁻¹
CALAIS			
030479	0.03	0.03	0.01
220579	0.09	0.09	0.20
260679	0.07	0.09	0.13
OSTENDE			
020479	0.14	0.14	0.07
030579	0.51	0.30	0.60
210579	0.06	0.04	0.03
250679	0.18	0.18	0.16

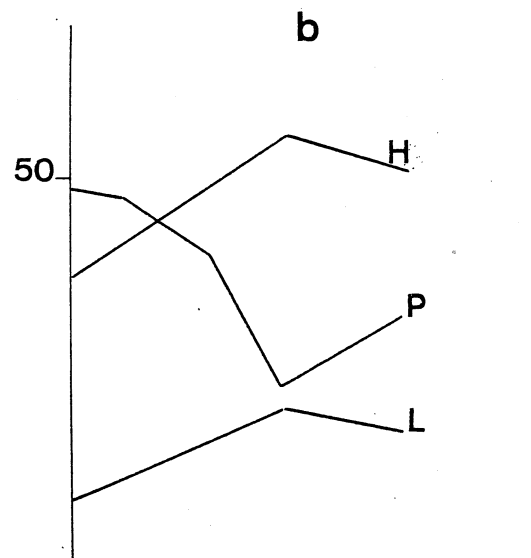
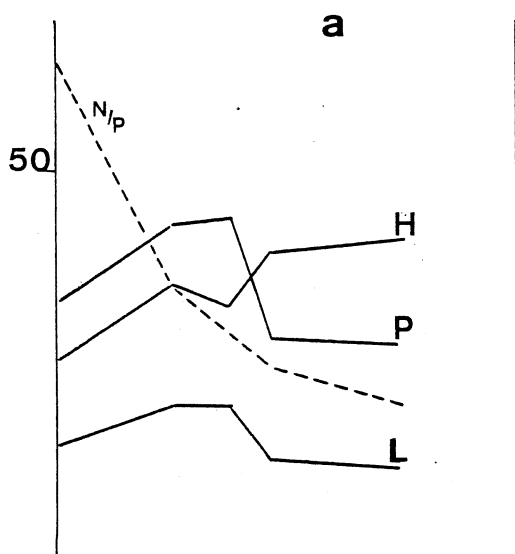
Figure 1. Variations de la production phytoplanctonique de protéines (**P**), hydrates de C (**H**) et lipides (**L**) en fonction de l'intensité lumineuse à la station Calais (030479)



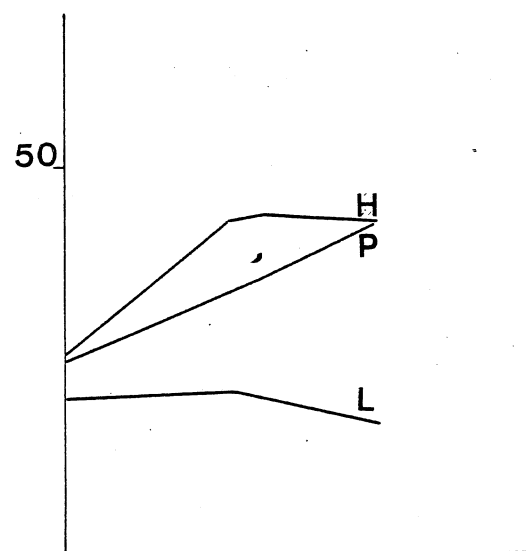
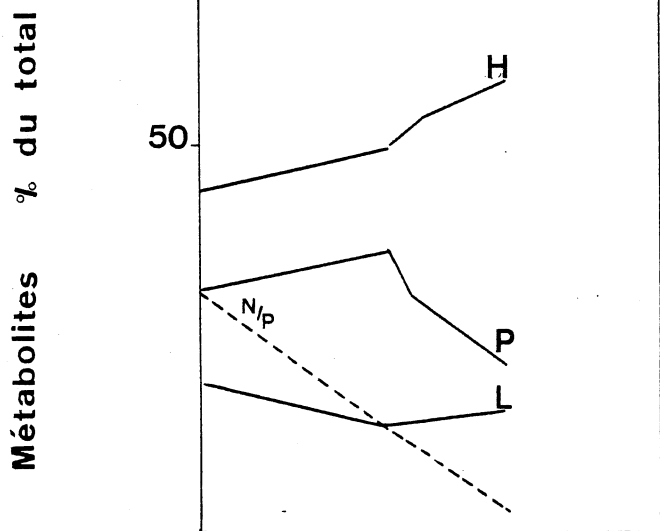
Figures 2. a) Variations saisonnières des proportions relatives de protéines(P) hydrates de C(H) et lipides(L) synthétisées par le phytoplancton.

b) Variations saisonnières des métabolites de la matière particulaire.

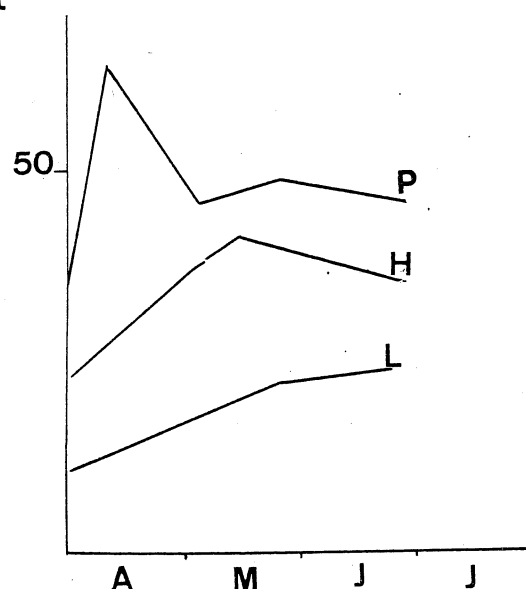
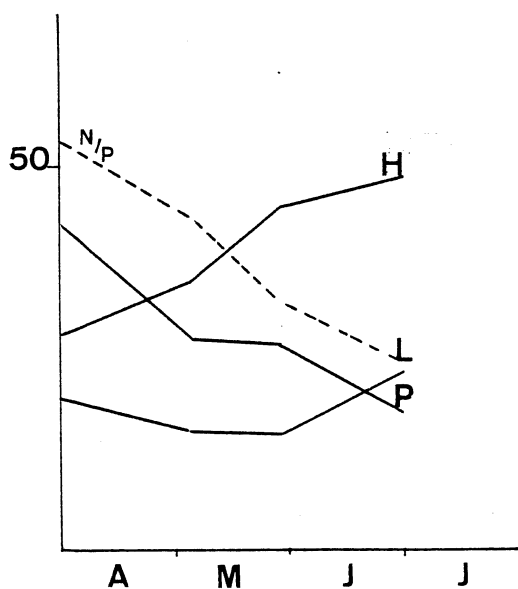
Ostende



Calais



Hansweert



Mois

Figure 3. Relation entre le rapport des vitesses des protéines et hydrates de C (P/H) et le rapport N/P des éléments nutritifs dans les milieux marins ● ($P/H = .07 N/P + .46$ $r = .853$) et dans l'estuaire ★ ($P/H = .035 N/P - .51$ $r = .966$)

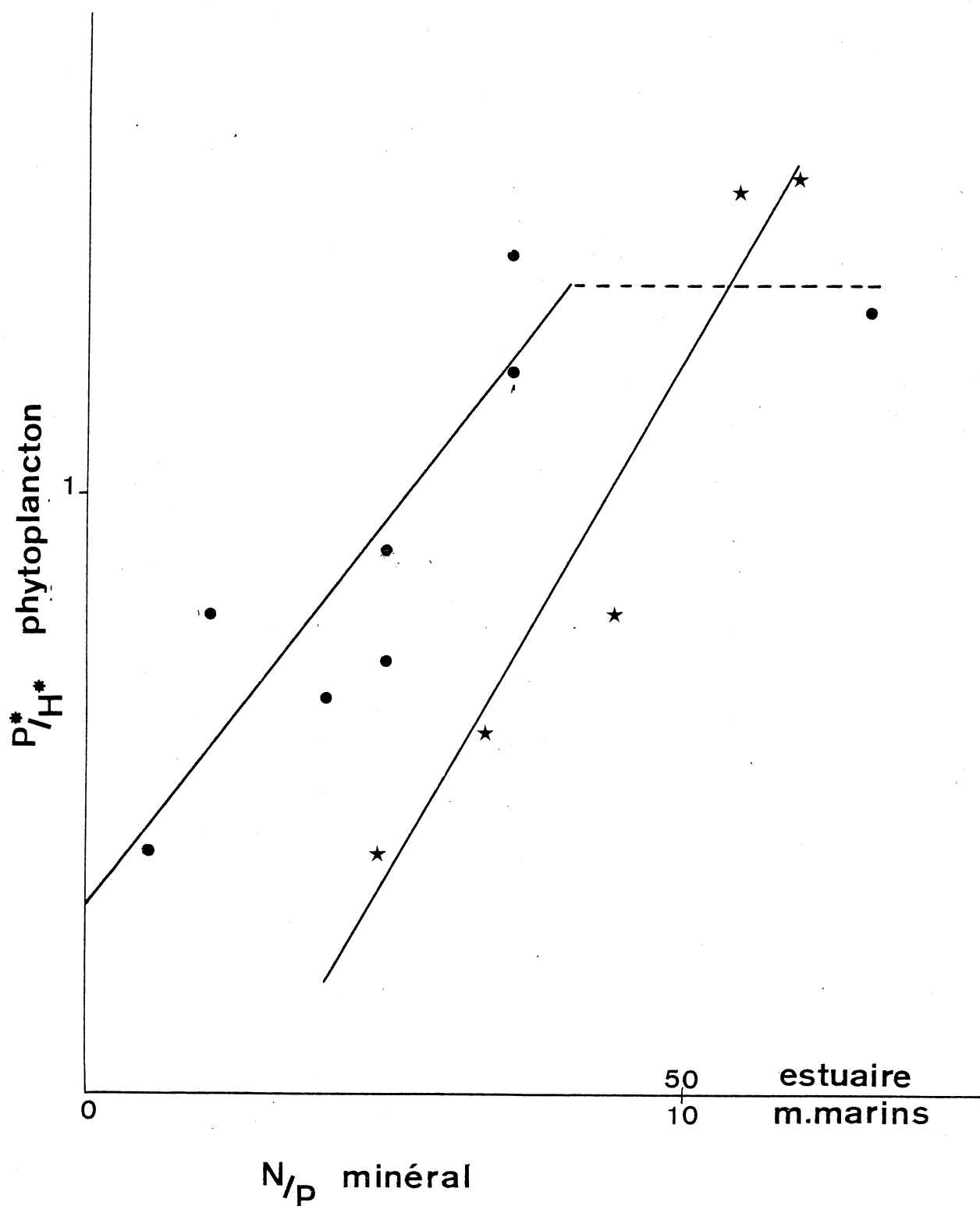


Figure 4. Relation entre les variations du rapport C/N des métabolites synthétisés par le phytoplancton et N/P du milieu extérieur dans les milieux marins ($C/N = -.74N/P + 12$ $r=.87$) et dans l'estuaire ($C/N = -.12N/P + 13.5$ $r=.94$)

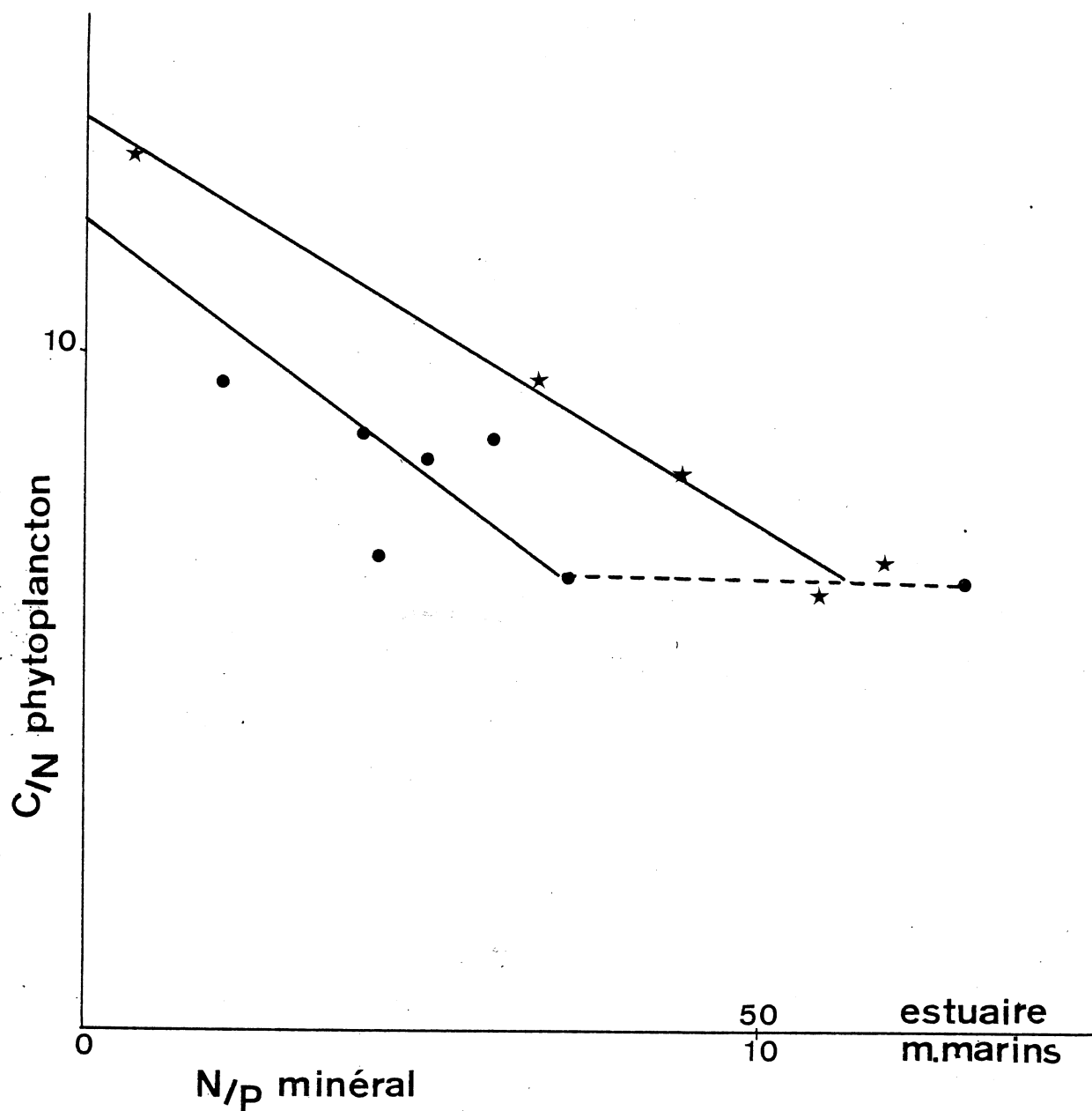
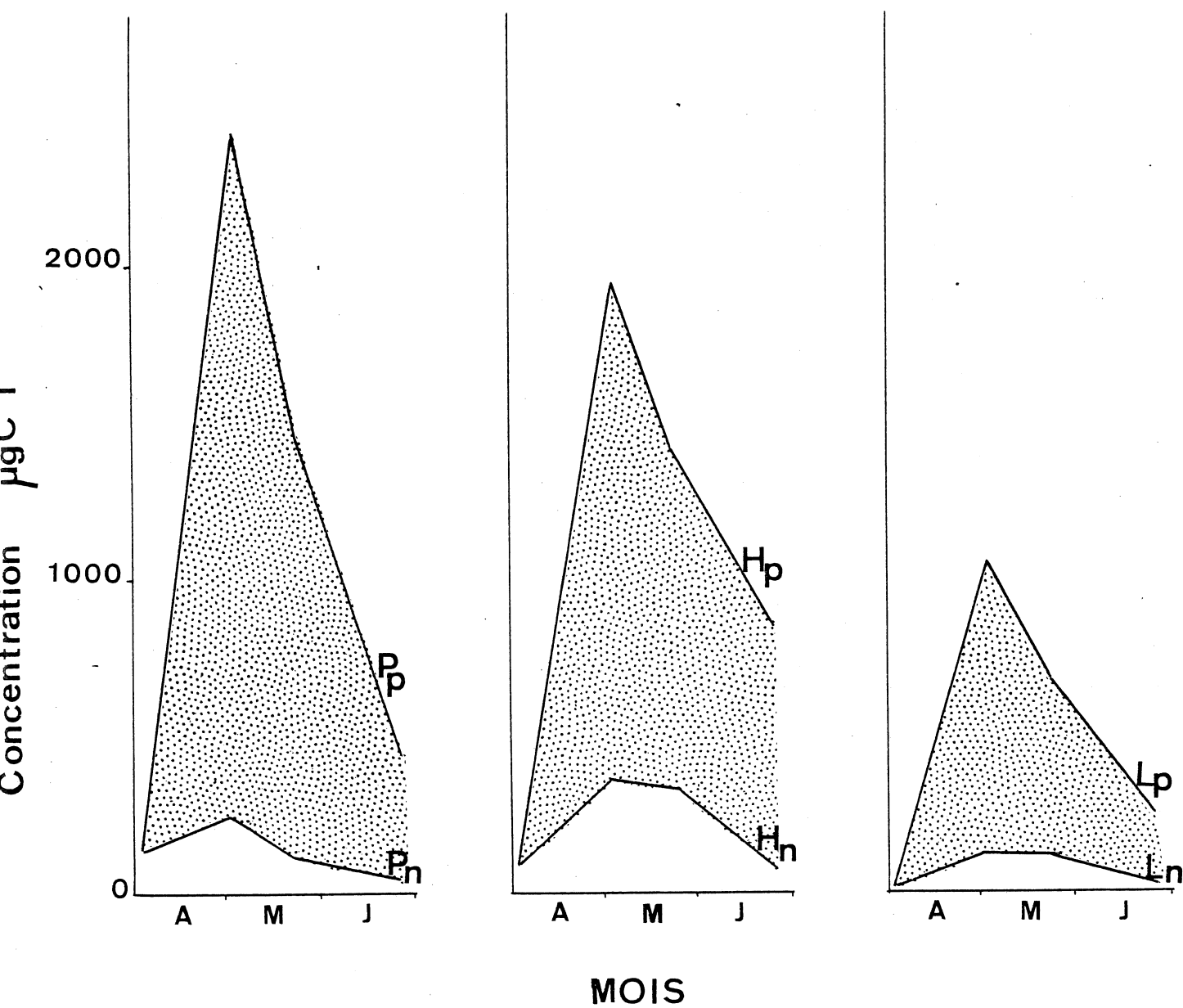


Figure 5. Consommation (▨) des différents métabolites synthétisés par le phytoplancton pendant le bloom de printemps.



2. PRODUCTION DISSOUTE⁽¹⁾

Le fractionnement de la production phytoplanctonique dissoute en métabolites de poids moléculaire < 500 d et > 500 d constitue une première étape dans l'étude de la composition chimique des produits d'excrétion phytoplanctonique.

Le Tableau V résume l'ensemble des résultats obtenus au cours du printemps 1979.

Le présent rapport constitue une approche de la régulation par la lumière et les éléments nutritifs majeurs, des proportions relatives de petits et grands métabolites excrétés.

L'approche cinétique permet de plus l'énoncé d'hypothèses concernant les voies métaboliques ainsi que le calcul de l'utilisation hétérotrophe des produits d'excrétion phytoplanctonique.

1° Voies métaboliques

Les petits métabolites sont toujours directement excrétés dans le milieu extérieur (Fig. 6) ce qui témoigne d'un métabolisme rapide. Les grands métabolites par contre ne sont libérés dans le milieu extérieur qu'après une phase de latence plus ou moins grande, (Fig. 7) d'au minimum 30 minutes. La comparaison avec les cinétiques de marquage des métabolites intracellulaires (Fig. 8) indique que des métabolites de poids moléculaire élevé comme les protéines, polysaccharides et lipides pourraient être effectivement libérés par le phytoplancton dans le milieu extérieur.

(1) Ce travail fait l'objet d'une publication intitulée "*Extracellular release of small and large molecules by phytoplankton in the Southern Bight of the North Sea*" et soumise à "*Marine Ecology - Progress Series*".

2° Régulation par l'intensité lumineuse

Les expériences menées simultanément à celles de productions particulières indiquent que les variations de l'intensité lumineuse n'ont aucune incidence sur les proportions relatives de petits et grands métabolites excrétés par le phytoplancton. En effet l'excellente corrélation qui lie les 2 productions indique que la régulation par la lumière est la même.

Et par extrapolation de tous les résultats on peut dire qu'au sein d'une même population phytoplanctonique, les processus de régulation par la lumière de l'excrétion phytoplanctonique sont couplés aux processus qui régulent quantitativement la fixation particulière.

3° Régulation par les éléments nutritifs majeurs

L'observation des variations saisonnières et géographiques du taux de petits métabolites excrétés indique un métabolisme différent pour les populations des milieux marins et estuariens. Dans les milieux marins, la diminution du rapport N/P au cours de la croissance de printemps conduit à une diminution du taux de petits métabolites excrétés alors que la quantité totale d'excrétats augmente. La domination de l'espèce *flagellate* pendant le bloom semble indiquer que les modifications du milieu extérieur s'accompagnent d'une adaptation physiologique de l'espèce phytoplanctonique plutôt que d'un changement de l'espèce.

Bien que le nombre d'échantillons soit réduit, la variation du taux de petits métabolites excrétés par le phytoplancton est significativement ($P = 0.95$) liée aux variations du rapport N/P du milieu extérieur de la manière suivante:

$$\% \text{ petits métabolites} = 5 \frac{N}{P} - 4 \text{ avec } \frac{N}{P} \leq 7$$

Dans les milieux estuariens, la part de petits métabolites excrétés est toujours très faible (environ 15%).

Contrairement aux milieux marins, la diminution du rapport N/P du milieu ambiant s'accompagne d'une légère augmentation du taux de petits métabolites excrétés.

$$\% \text{ petits métabolites} = -0.4 \frac{N}{P} + 27$$

4° Utilisation hétérotrophe directe des produits d'excrétion phytoplanctonique

La vitesse d'utilisation relative des produits d'excrétion phytoplanctonique peut être calculée à partir des cinétiques de métabolites marqués libérés par le phytoplancton (Tableau VI).

a) *Produits d'excrétion de poids moléculaire > 500 d*

Aucune utilisation directe de ces métabolites n'a pu être observée endéans les 3 ou 5 heures d'incubation. Les résultats constituent un argument en faveur de l'hydrolyse exoenzymatique des macromolécules avant uptake par les hétérotrophes.

b) *Produits d'excrétion de poids moléculaire < 500 d*

Dans certains biotopes, des taux d'utilisation très rapides (jusqu'à 25% h⁻¹) ont pu être mesurés. Les molécules à turnover rapide doivent cependant être encore déterminées chimiquement.

La connaissance des productions dissoutes journalières d'une part et des taux d'utilisation hétérotrophe d'autre part ont permis de calculer la consommation hétérotrophe journalière des petits métabolites excrétés par le phytoplancton (Tableau VIII). Ces activités pourront être utilement comparées aux uptake hétérotrophes des petits métabolites totaux.

Tableau V : Spéciation de la production dissoute

Echantillons	Métabolites < 500 d mgC/m ² jour	Métabolites > 500 d mgC/m ² jour
OSTENDE		
020479	106	590
030579	1092	1638
210579	148	810
250679	11	64
CALAIS		
030479	0	0
220579	206	1476
260679	61	232
HANSWEERT		
040479	0	0
040579	38	374
230579	7	40
270679	24	114

Tableau VI : *Utilisation hétérotrophe relative
des petites molécules excrétées
par le phytoplancton.*

Echantillons	$1/\tau(\text{h}^{-1})$	
	in situ	in vitro
2 OSTENDE 030579	0.20	0.25
3 OSTENDE 210579	-	0.14
4 OSTENDE 250679	0.07(0 - 0.18)	0.17
7 CALAIS 260679	0.01(0 - 0.17)	0.19

Tableau VII :

Echantillons	Utilisation hétérotrophe journalière des petits métabolites excrétés	
	mgC/m ² jour	
OSTENDE 030579	218 - 273	
210579	21	
250679	1 - 2	
CALAIS 260679	1 - 12	

Figure 6. Cinétique d'excretion phytoplanctonique de petits (●) et grands (★) métabolites à la station Calais (220579)

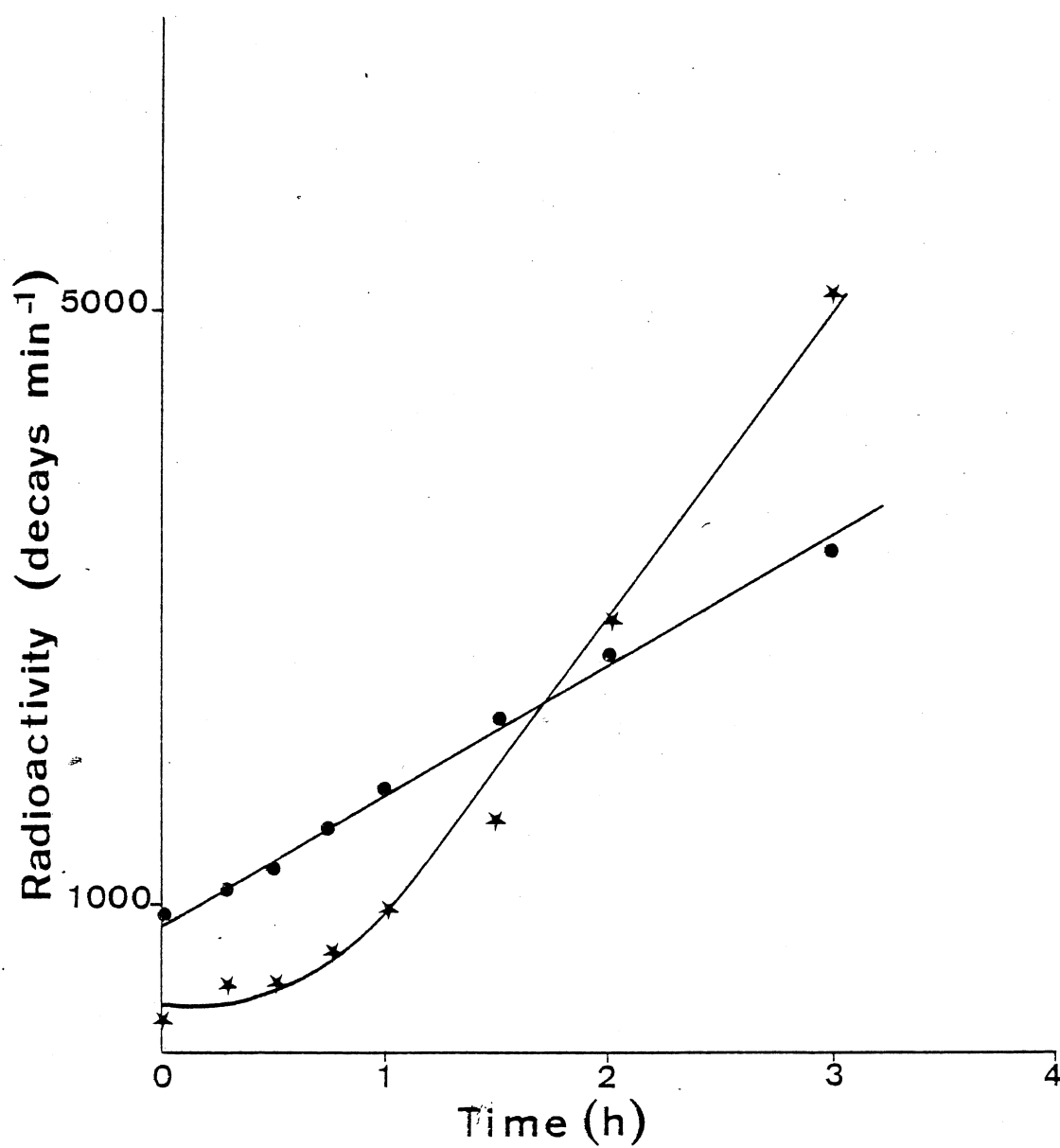


Figure 7. Cinétique d'excretion phytoplanctonique de petits (●) et grands (★) métabolites à la station Calais (220679)

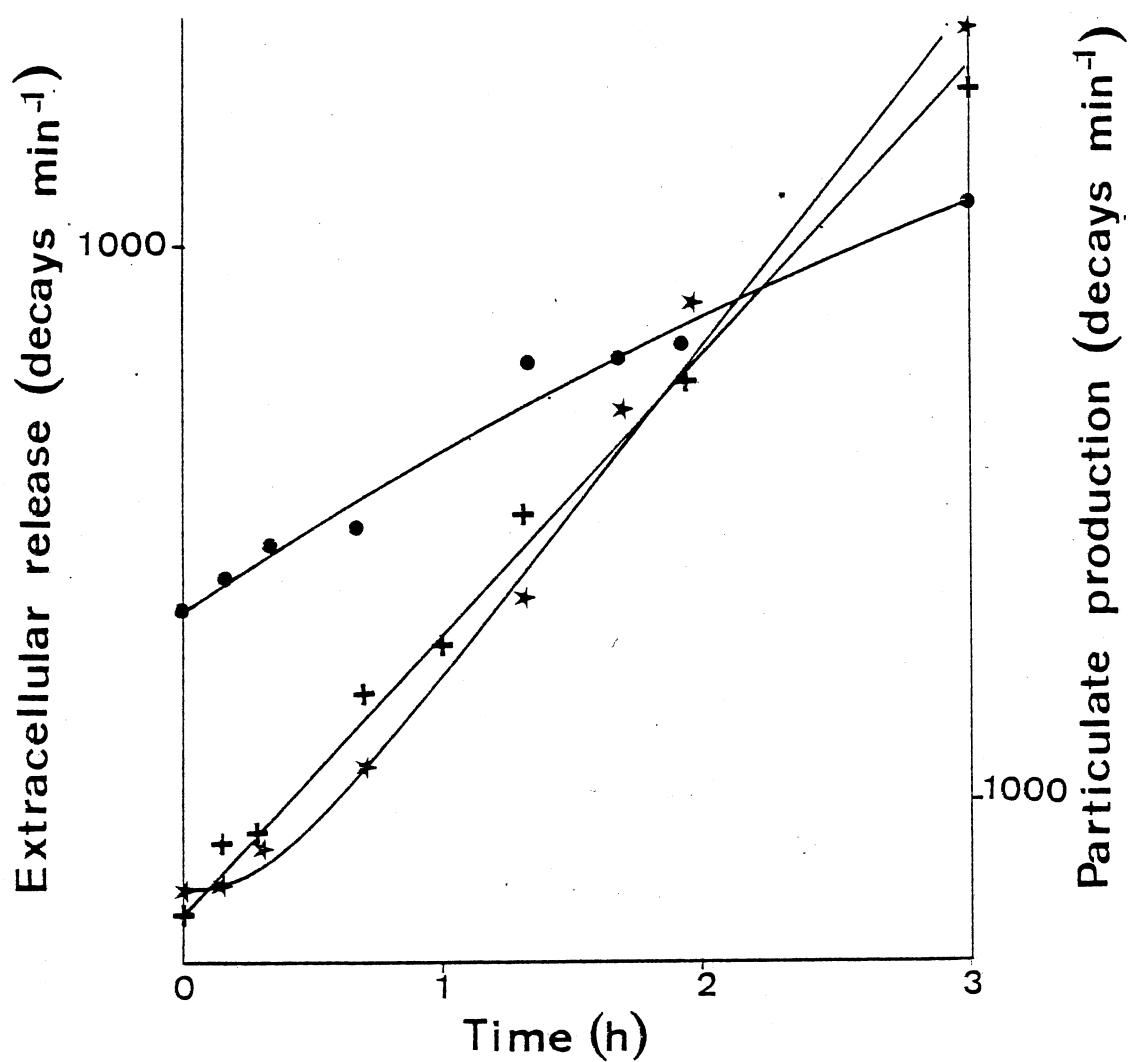


Figure 8. Cinétique de production intracellulaire de petits métabolites ($\square$) protéines ($\star$), hydrates de C ($+$) et lipides ($\bullet$) à la station Calais (220579).

