

## SPECIATION BIOCHIMIQUE DE LA PRODUCTION PHYTOPLANCTONIQUE

### PARTICULAIRE

Ch. LANCELOT

### INTRODUCTION

La valeur nutritionnelle d'une proie est fonction de sa composition en éléments essentiels à la croissance et à la reproduction du consommateur ainsi que de son degré de digestibilité. La connaissance des variations de la composition biochimique du phytoplancton constitue dès lors une étape supplémentaire à la compréhension des interactions phyto → zooplancton et phyto → matières détritiques → zooplancton. → bactéries.

La composition biochimique du phytoplancton ne peut être mesurée directement en raison de la présence, inhérente au mode de prélèvement, de matières détritiques.

La méthode statistique des régressions linéaires a permis de lever cette interférence et d'estimer les variations saisonnières de la composition biochimique du phytoplancton dans la zone côtière de la mer du Nord (voir rapport ARC 1977).

Cette méthode présente cependant certains désavantages :

- elle nécessite un grand nombre de résultats.
- elle n'est statistiquement valable que pour des périodes de croissance bien caractéristiques.
- elle n'est utilisable qu'en milieu homogène.

Le fractionnement biochimique du carbone organique nouvellement synthétisé par le phytoplancton est un moyen plus

rapide de lever l'interférence des détritits. La méthode de fractionnement biochimique a été choisie afin de répondre aux exigences suivantes :

- être suffisamment simple que pour être appliquée en milieu naturel.
- être sensible à un changement du milieu extérieur ou de l'état physiologique.

Nos récents travaux effectués dans la baie Sud de la Mer du Nord (rapport ARC 1977) montrent qu'un changement du milieu extérieur influence les quantités relatives des protéines, carbohydrates et lipides des populations phytoplanctoniques. Myklestad et Haug (1972) montrent que cette différence s'exprime par la synthèse plus ou moins importante du polysaccharide  $\beta$  1-3 glucan chez les populations phytoplanctoniques composées en majorité de diatomées.

Sur la base de ces informations, le choix du fractionnement biochimique s'est porté sur la méthode de Morris et Al (1974), méthode qui sépare polysaccharides et protéines. Cette méthode est cependant incomplète car elle n'isole pas les lipides. Seules seront donc discutées dans ce travail les variations des vitesses de formation des protéines et des polysaccharides en relation avec le milieu. Dans ce but, trois milieux totalement différents quant à leur composition en éléments nutritifs, leur production phytoplanctonique et leur stock en matière organique particulière ont été mesurés

simultanément à différentes périodes de l'année :

milieux riches : Baie Sud de la Mer du Nord (Ostende)  
: estuaire de l'Escaut (Hansweert)

milieu oligotrophe : Manche (Calais)

#### MATERIEL ET METHODES

Toutes les mesures sont effectuées sur un même échantillon prélevé à 3 m.

##### A) Mesure des vitesses de production phytoplanctonique

Des échantillons d'eau de mer additionnés de bicarbonate  $^{14}\text{C}$  ont été incubés in situ et in vitro (12000 lux) pendant quatre heures, centrées autour de midi de manière à avoir un éclaircissement relativement constant.

Après incubation, les échantillons ont été filtrés doucement ( $p < 100\text{mmHg}$ ) sur filtres GF/C, rincés à l'eau de mer filtrée, et immédiatement congelés.

Le fractionnement biochimique s'est effectué suivant le tableau I. La radioactivité de chaque fraction a été mesurée par scintillation liquide. L'efficacité de chaque type de comptage a été calculée par addition d'un standard interne (hexadécane  $^{14}\text{C}$ ).

##### B) Mesure des stocks

Les concentrations en protéines, carbohydrates, lipides et pigments chlorophylliens ont été mesurées sur la matière

particulaire recueillie par filtration sur un filtre GF/C.

## RESULTATS

### A) Tests préliminaires

#### a) calcul d'erreur (seuil de signification : 95%)

Trois échantillons (vol. = 40 ml) ont été prélevés d'une même bouteille. La production particulaire a été fractionnée suivant le schéma repris dans le tableau I.

L'erreur calculée pour un niveau de confiance de 95 % est de 14 % pour les petits métabolites, 4 % pour les polysaccharides et 7 % pour les protéines.

L'erreur importante observée dans la mesure des petits métabolites pourrait être due à un mauvais rinçage des filtres.

#### b) Effet du temps d'incubation

Une cinétique de marquage réalisée en incubation (afin de négliger tout effet supplémentaire d'une variation de la lumière) montre qu'un régime stationnaire est rapidement atteint dans le marquage des pools internes après une heure d'incubation, tant dans un milieu nutritif riche (Tableau IIa, fig 1a) que dans un milieu oligotrophe (Tableau IIb, fig. 1b).

#### c) effet de la lumière

Simultanément aux expériences "in situ" des incubations ont été réalisées en incubateur muni d'un éclairage arti-

ficiel (12000 lux) sur des populations non limitées en éléments nutritifs. L'échantillon "in vitro" a été pré-incubé pendant 30 minutes afin d'éviter tout artefact dû au choc lumineux.

Les résultats (tableau III) montrent que l'augmentation de la vitesse de production due à une augmentation de la lumière s'accompagne d'une diminution relative de la vitesse de formation des polysaccharides tant dans un milieu oligotrophe (Calais 180478) que dans un milieu entrophe (Hansweert 210478).

Il n'y a d'autre part pas de différence significative au niveau de la vitesse de formation des protéines. Il semblerait donc que cette dernière soit peu influencée par une variation de la lumière. Des mesures similaires effectuées in situ dans un milieu stratifié (Méditerranée) sur des populations phytoplanctoniques non limitées en azote minéral dissous appuient fortement cette dernière hypothèse:

Tableau IV.

Il est encore intéressant de constater que, bien que significativement différent, le rapport - vitesse de production des protéines/vitesse de production des polysaccharides ( $P^+/H^+$ ) - reste  $> 1$  en milieu estuarien et  $< 1$  dans la Manche.

B) variations de la nature des produits nouvellement photo-synthétisés par le phytoplancton dans les 3 milieux étudiés

L'ensemble des résultats exprimés en % (tableau V) montre que la nature des produits nouvellement synthétisés par le phytoplancton varie suivant le milieu échantillonné et suivant la période échantillonnée.

a) comparaison de milieu à milieu

Le tableau V montre que les conditions de croissance (lumière, éléments nutritifs) influencent fortement la synthèse des nouvelles molécules organiques soit vers les protéines, soit vers les polysaccharides. Ceci apparaît mieux lorsqu'on compare les rapports  $P^+/H^+$  (tableau VI). La fraction polysaccharide contenant les produits de réserve nouvellement synthétisés par le phytoplancton, ce rapport est un bon indicateur de l'état physiologique de la cellule.

Si on exclut momentanément l'effet de la lumière mentionné dans le § précédent, il semble que la valeur du rapport  $P^+/H^+$  puisse distinguer les milieux riches en éléments nutritifs des milieux plus pauvres.

milieu riche	(Escaut : Hansweert )	$P^+/H^+ > 1$
	(mer du Nord : Ostende)	
milieu oligotrophe	: (Manche : Calais)	$P^+/H^+ < 1$

L'addition de l'effet lumineux renforce la différence entre milieu riche et milieu oligotrophe puisque la quantité de lumière reçue à -3 mètres, fonction de la turbidité du milieu, est décroissante de Calais à Hansweert.

la quasi égalité de pattern<sup>14</sup> C des milieux estuarien (Hansweert) et marin côtier (Ostende) suggère un effet minime de la lumière lorsque les nutriments ne sont pas limitants.

b) variations saisonnières

Les fluctuations saisonnières du rapport  $P^+/H^+$  montrent que le phytoplancton des milieux riches en éléments nutritifs (Ostende et Hansweert) synthétise relativement plus de polysaccharides en période estivale. Ces résultats sont en bon accord avec ceux calculés statistiquement pour le phytoplancton de la baie Sud de la Mer du Nord (ARC 1977). Aucune variation saisonnière ne peut être mise en évidence à Calais sur la base des résultats obtenus.

c) incidence des variations des vitesses de formation des métabolites phytoplanctoniques sur la composition biochimique de la matière organique particulaire

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

L'application des coefficients de régression calculés pour la zone côtière et la zone du large de la baie Sud de la Mer du Nord permet d'estimer le contenu en protéines et en hydrates de C phytoplanctoniques à partir des pigments chlorophylliens. Les coefficients caractéristiques de la

zone 2 ont été appliqués au Pas-de-Calais, ceux de la zone 1 Sud à Ostende et Hansweert (tableau VI b).

L'extrapolation des coefficients caractéristiques de la Mer du Nord à l'estuaire de l'Escaut est autorisée en raison de l'analogie de pattern <sup>14</sup> C entre les deux stations (tableau VII).

Les rapports de vitesse  $P^+/H^+$  ont été utilement comparés aux rapports P/H mesurés dans le stock total de matière organique particulaire et estimés pour le phytoplacton : Tableau VII.

L'identité des rapports de vitesse et de stock du phytoplancton montre que, dans nos conditions expérimentales la mesure des vitesses reflète bien la composition biochimique du phytoplancton.

L'analogie entre les rapports  $P^+/H^+$  et P/H mesurés sur le stock total de la matière organique particulaire des milieux marins (Ostende et Calais) montre que le stock total de matière organique particulaire est principalement sous le contrôle du phytoplancton.

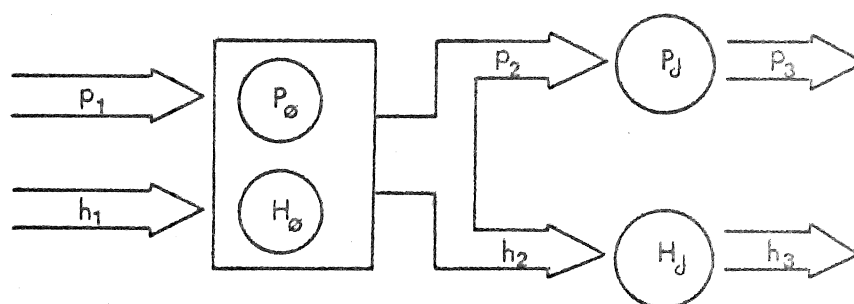
La différence est due soit à des apports terrigènes soit à une consommation préférentielle de la matière organique formée.



# D) UTILISATION DE LA MATIERE ORGANIQUE PARTICULAIRE :

## Aspect qualitatif

Si on néglige les apports organiques terrigènes à Ostende et à Calais, on peut déduire des informations qualitatives sur l'utilisation de la matière détritique en considérant le modèle suivant :



- avec :
- $p_1$  : flux de production des protéines phytoplanctoniques
  - $h_1$  : flux de production des hydrates phytoplanctoniques
  - $p_2$  : flux de production des protéines détritiques
  - $h_2$  : flux de production des hydrates C détritiques
  - $p_3$  : flux de consommation des protéines détritiques
  - $h_3$  : flux de consommation des hydrates C détritiques
  - $P\phi$  : stock des protéines phytoplanctoniques
  - $H\phi$  : stock des hydrates C phytoplanctoniques
  - $P\delta$  : stock des protéines détritiques
  - $H\delta$  : stock des hydrates C détritiques

dans lequel on fait les hypothèses suivantes :

- $p_1 \approx p_2 \approx p_3$   
 $h_1 \approx h_2 \approx h_3$       état stationnaire
- $\tau_{P\phi} \equiv \tau_{H\phi} \equiv \tau_\phi$  : les vitesses de turnover des métabolites phytoplanctoniques sont identiques à celles du phytoplancton ( $\tau_\phi$ )

Les vitesses de turnover des protéines et des hydrates  
C détritiques sont dès lors :

$$\tau_{P\delta} = \frac{P_1}{P\delta}$$

$$\tau_{H\delta} = \frac{h_1}{H\delta}$$

si  $\tau_{P\delta} \neq \tau_{H\delta}$  : on peut déduire une affinité différente des  
utilisateurs vis-à-vis des métabolites formés.

Les vitesses horaire de turnover des métabolites phytoplanctoniques  
ont été calculés à partir des vitesses de production mesurées et  
des métabolites estimés à partir des pigments chlorophylliens.  
Le stock des détritits est lui-même estimé par différence avec  
le stock total mesuré, ce qui permet le calcul  $\tau_{P\delta}$  et  $\tau_{H\delta}$ .  
Les coefficients de régression propres à la période printannière  
et automnale n'étant pas connus dans la Manche, les vitesses  
de turnover ont été estimés pour le stock total, ce qui ne modi-  
fie pas les déductions faites sur l'utilisation de la matière  
détritique puisqu'on a supposé  $\tau_{H\phi} = \tau_{P\phi}$ .

Les vitesses horaire de turnover reportées dans le  
tableau VIII doivent être interprétées comme des valeurs relatives  
car elles sont calculées à partir de productions phytoplanc-  
toniques mesurées pendant l'éclairement maximum de la journée.

L'égalité des vitesses de turnover des protéines et  
des hydrates de C, observée pour chaque communauté phytoplanc-  
tonique, confirme qu'à l'état stationnaire, les protéines et les  
polysaccharides strictement phytoplanctoniques sont produits et  
consommés dans le même rapport.

Les valeurs différentes des vitesses de turnover des protéines et des hydrates de C détritiques  $\tau_{P\delta}$  et  $\tau_{H\delta}$  mesurées à Ostende et à Calais indiquent une capacité d'utilisation différente de ces substrats chez les organismes détrituvores.

Aussi, les inégalités  $p_1 > h_1$  et  $\tau_{P\delta} > \tau_{H\delta}$  observées à Ostende supposent que dans la mer du Nord les détrituvores ont une affinité plus grande pour les protéines.

Par contre, les inégalités  $p_1 < h_1$  et  $\tau_{P\delta} < \tau_{H\delta}$  mesurées à Calais ne permettent pas de conclure à la préférence d'un substrat par rapport à l'autre des consommateurs.

### CONCLUSIONS.

La mesure des vitesses de formation des protéines et des hydrates de C, effectuée dans les conditions expérimentales précitées, reflète bien la composition biochimique du phytoplancton.

Les premiers résultats semblent indiquer que chaque milieu supporte la croissance d'une communauté phytoplanctonique propre caractérisée par une composition biochimique propre.

Bien que cette dernière dépende de différents facteurs liés à l'espèce (position taxonomique et état physiologique) et au milieu (nutrients, lumière, salinité, température), il semble que la richesse plus ou moins grande d'un milieu en azote minéral dissous influence les proportions relatives de protéines et d'hydrates de C nouvellement synthétisées:

- une communauté phytoplanctonique se développant dans un milieu oligotrophe (Calais) synthétise relativement plus d'hydrates de C que de protéines ( $P^+/H^+ < 1$ ).
- les populations phytoplanctoniques des milieux riches en azote minéral dissous (Ostende - Hansweert) ont un taux de protéines supérieur à celui des hydrates de C ( $P^+/H^+ > 1$ ).

L'identité de composition biochimique des cellules phytoplanctoniques se développant dans des milieux aussi différents que Hansweert (milieu estuarien) et Ostende (milieu marin côtier)

indique que ces milieux supportent la croissance d'espèces phytoplanctoniques identiques ou que les facteurs extérieurs qui déterminent la composition biochimique du phytoplancton sont identiques.

Ceci impliquerait qu'à chaque période échantillonnée, chaque milieu est "saturé" en azote minéral dissous pour la communauté phytoplanctonique qui s'y développe.

Incidence des variations de la composition biochimique du phytoplancton sur les activités de consommation :

1) zooplancton herbivore ;

Par sa nature biochimique différente, le phytoplancton influence la croissance et la reproduction du zooplancton.

Le développement du zooplancton dépend non seulement de la composition en éléments essentiels du phytoplancton mais également de la capacité qu'a le zooplancton de digérer cette proie et donc de son équipement enzymatique.

Des mesures d'enzymes digestives menées parallèlement aux mesures de spéciation de la production phytoplanctonique particulière seront dès lors développées au cours des prochaines campagnes.

2) détritivores (zooplancton inclus).

Nos expériences ont montré que le phytoplancton des milieux marins (Ostende et Calais) contrôle le stock total de

la matière organique particulaire. Toute altération dans la nature des métabolites phytoplanctoniques formés se répercute au niveau de la matière détritique.

De plus, en faisant l'hypothèse de la stationnarité du phytoplancton on a pu montrer une capacité d'utilisation différente des métabolites détritiques formés dans les deux milieux échantillonnés.

## REFERENCES

Morris I, H.E. Glover and C.S. Yentsch, 1974.

Products of Photosynthesis by Marine Phytoplankton : the  
Effect of Environmental Factors on the Relative Rates of  
Protein Synthesis

Marine Biology, vol. 27, 1 pp 1-10

Myklestad, S and A. Haug, 1972

Production of Carbohydrates by the marine Diatom *Chaetoceros*  
*affinis* var. *Willei* (Gran) Hustedt. I Effect of the Concentration  
of Nutrients in the Culture Medium.

J.Exp.mar.Biol.Ecol. vol.9 pp 125-136

# SCHEMA d'EXTRACTION BIOCHIMIQUE

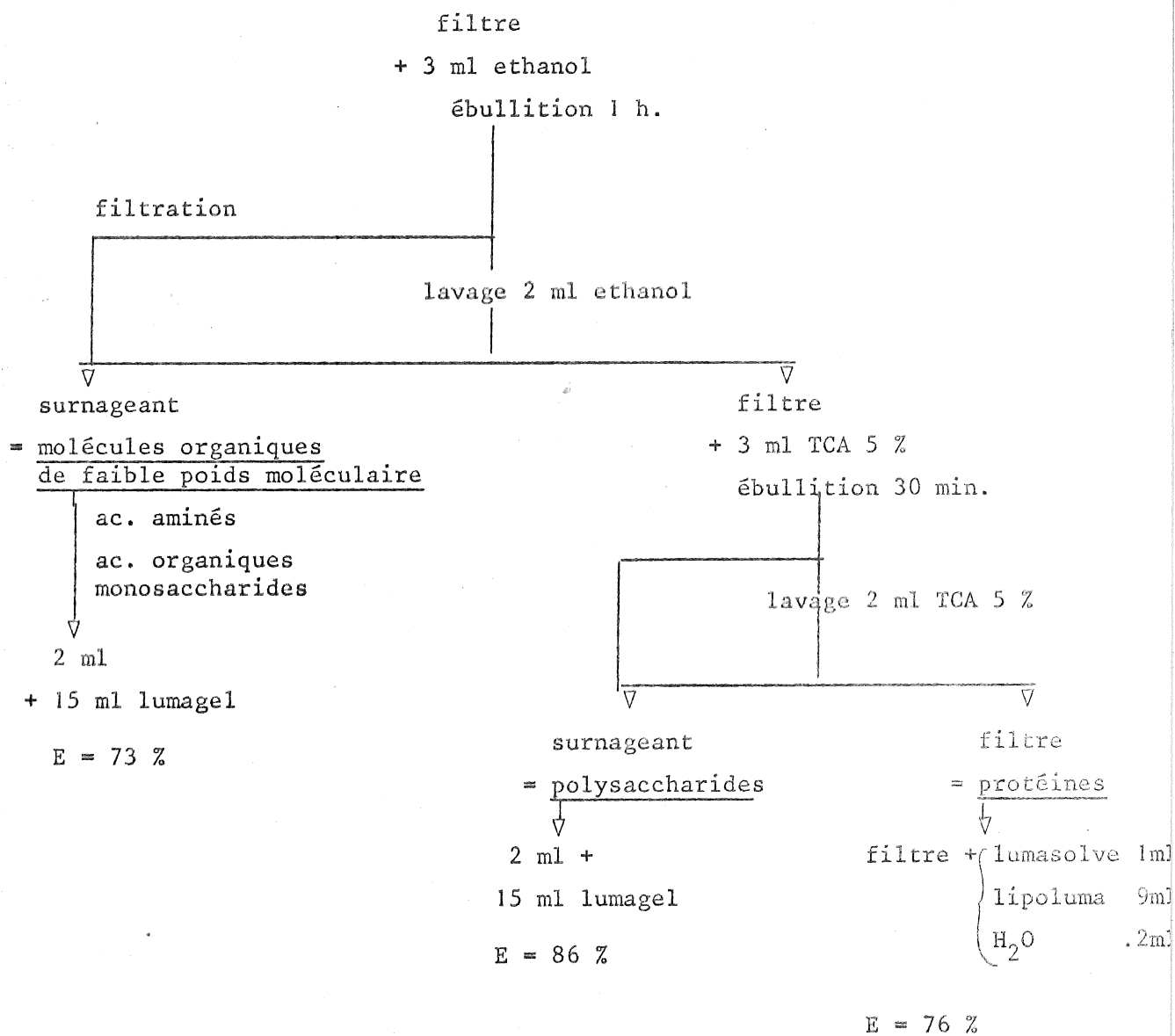


Tableau I.-



# CINETIQUE DE MARQUAGE DES DIFFERENTS METABOLITES

Expérience réalisée in vitro ( 12000 lux ) sur 1 échantillon  
prélevé a) dans la mer du Nord.

b) dans la Manche.

a) Ostende 190478

tps incubation h.	petits métabolites		polysaccharides		protéines	
	dpm	%	dpm	%	dpm	%
1	388 $\pm$ 54	37 %	378 $\pm$ 15	36 %	284 $\pm$ 20	27 %
2	731 $\pm$ 102	35 %	815 $\pm$ 33	39 %	543 $\pm$ 38	26 %
3	949 $\pm$ 133	36 %	949 $\pm$ 38	36 %	738 $\pm$ 52	28 %
3h 50	1076 $\pm$ 150	36 %	1076 $\pm$ 41	36 %	837 $\pm$ 59	28 %

b) Calais 180478

tps incubation h.	petits métabolites		polysaccharides		protéines	
	dpm	%	dpm	%	dpm	%
50 min.	116 $\pm$ 16	33 %	137 $\pm$ 6	39 %	99 $\pm$ 7	28 %
1h 25 min.	260 $\pm$ 36	38 %	256 $\pm$ 10	38 %	160 $\pm$ 11	24 %
2h 25 min.	346 $\pm$ 48	33 %	419 $\pm$ 16	40 %	282 $\pm$ 20	27 %
4h 10 min.	630 $\pm$ 88	34 %	735 $\pm$ 29	40 %	462 $\pm$ 32	26 %

Tableau II.

INFLUENCE DE LA LUMIERE SUR LA VITESSE DE FORMATION  
DES PROTEINES ET DES POLYSACCHARIDES.

1) Calais

date	incubation	Prod.part. μgC/Lh	polysacc. μgC/Lh	protéine μgC/Lh	prot. <sup>+</sup> /poly. <sup>+</sup>
040478	in vitro	6.54	2.83 $\pm$ .11	1.33 $\pm$ .09	.47
	in situ	3.23	1.49 $\pm$ .06	.56 $\pm$ .04	.38
180478	in vitro	2.29	.92 $\pm$ .04	.58 $\pm$ .04	.63
	in situ	1.61	.79 $\pm$ .03	.34 $\pm$ .02	.43

2) Hansweert

date	incubation	Prod.part. μgC/Lh	polysacc. μgC/Lh	protéine μgC/Lh	prot. <sup>+</sup> /poly. <sup>+</sup>
210478	in vitro	3.33	.75 $\pm$ .03	1.25 $\pm$ .09	1.66
	in situ	1.05	.30 $\pm$ .01	.39 $\pm$ .03	1.30

Tableau III.-

SPECIATION DE LA PRODUCTION PHYTOPLANCTONIQUE PARTICULAIRE

---

EN RELATION AVEC LES VARIATIONS DE LA LUMIERE.

---

Expérience réalisée "in situ" en méditerranée 42°44'N

8°33'E

intensité de surface %	petits metabolites %	polysacc. %	protéines %
100	33	38	29
24	33	36	31
6	36	32	32
1.5	39	31	30
.4	48	22	30

Tableau IV.-

MESURES " in situ " DES VITESSES DE FORMATION DES PETITS METABOLITES,

DES POLYSACCHARIDES ET DES PROTEINES.

1) <u>Ostende</u> date	intensité lumineuse en surface	petits metabolites		polysaccharides		protéines	
		µg C/Lh	%	µg C/Lh	%	µg C/Lh	%
180777 191077 1605 <sup>18</sup>	116 j/cm <sup>2</sup> h 268 j/cm <sup>2</sup> h	25.2 ± 3	30%	28.6 ± 1.1	34%	30 ± 2	35%
		1.53 ± .2	21%	2.16 ± .08	30%	3.39 ± .2	49%
		.47 ± .06	19%	.92 ± .04	37%	1.12 ± .08	45%
2) <u>Calais</u> 240777 040778 180478 170578	67 j/cm <sup>2</sup> h 84 j/cm <sup>2</sup> h 278 j/cm <sup>2</sup> h	.30 ± .04	36%	.37 ± .01	45%	.16 ± .01	19%
		1.18 ± .16	36%	1.49 ± .06	46%	.56 ± .04	17%
		.48 ± .07	30%	.79 ± .03	49%	.34 ± .02	21%
		.06 ± .008	13%	.25 ± .01	50%	.18 ± .01	37%
3) <u>Hansweert</u> 190777 211077 070478 210578	69 j/cm <sup>2</sup> h 230 j/cm <sup>2</sup> h 88 j/cm <sup>2</sup> h	2 ± .28	31%	2.3 ± .1	35%	2.16 ± .15	33%
		.62 ± .09	21%	.92 ± .04	31%	1.38 ± .1	47%
		.30 ± .04	30%	.27 ± .01	28%	.41 ± .03	42%
		.36 ± .05	34%	.30 ± .01	29%	.39 ± .03	37%

Tableau V.-

# VARIATIONS SAISONNIERES DU RAPPORT PROTEINE / HYDRATE DE C

date	phytoplankton	stock total	phytoplankton
	$P^+/H^+$ $\mu\text{gC/Lh}/\mu\text{gC/Lh}$	P/H $\mu\text{gC/L}/\mu\text{gC/L}$	P/H $\mu\text{gC/L}/\mu\text{gC/L}$
1) <u>Ostende</u>			
180777	1.05	.90	1.02
181077	1.57	1.72	1.43
160578	1.22	1.10	$1.02 < x < 1.36$
2) <u>Calais</u>			
240777	.43	.82	.40
040478	.37	.71	
180478	.43	1.40	
170578	.72	.73	
3) <u>Hansweert</u>			
190777	.94	1.27	1.02
211077	1.50	.75	1.43
070478	1.52	3.65	1.36
210478	1.30	1.80	$1.02 < x < 1.36$

Tableau VII.

COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE LA MATIERE ORGANIQUE PHYTOPLANCTONIQUE.

date	pigments chlorophyl- liens. µg/L	Protéines µg C/L	Hyd.C µg C/L	lipides µg C/L	C.org. µg C/L	N.prot. µg N/L	C/N
1) <u>Ostende</u>							
180777	21.50	387	378	256	1021	116	8.8
181077	3.92	73	50	38	161	22	7.4
050478	16.19	238	175	97	510	71	7.1
190478	4.97	—	54	30	—	—	—
160578	5.89	87-106	64-104	35-62	186-272	26-32	7.1-8.6
2) <u>Calais</u>							
260777	.34	9	12	20	41	16	2.6
3) <u>Hansweert</u>							
190777	18.51	333	325	128	786	100	7.9
211077	4.48	83	57	44	184	25	7.4
070478	7.21	106	78	43	227	32	7.1
210478	6.31	93	68	38	199	28	7.1
190578	7.17	105-129	77-126	31	213-286	32-39	6.6-7.3

Tableau VI b.-

# TAUX DE RENOUVELLEMENT HORAIRE DES PROTEINES ET HYDRATES DE C

date	phytoplankton		detritus		$\tau P\delta / \tau H\delta$
	$\tau P\phi$ $h^{-1}$	$\tau H\phi$ $h^{-1}$	$\tau P\delta$ $h^{-1}$	$\tau H\delta$ $h^{-1}$	
1) <u>Ostende</u>					
180777	.08	.08	.071	.058	1.22
191077	.046	.044	.04	.024	1.67
160578	.013	.014	.01	.006	1.67
2) <u>Calais</u>					
260777	.02	.03	.002	.004	.50
<u>phytoplankton + detritus</u>					
260777			.0017	.0032	.53
040478			.0113	.0206	.55
180478			.0092	.0304	.03
170578			.0025	.0025	1
3) <u>Hansweert</u>					
190777	.0065	.0070			
211077	.016	.016			
070478	.004	.003			
210478	.004	.004			

Tableau VIII.-

