

ACTIONS DE RECHERCHES CONCERTÉES
EN OCÉANOGRAPHIE

RAPPORT D' ACTIVITÉ
1978

II

UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES - LABORATOIRE D'OCÉANOGRAPHIE

ACTIONS CONCERTÉES EN OcéANOGRAPHIE

RAPPORT D'ACTIVITÉ

1978

ANNEXE N°9

Synthèse des recherches sur le phytoplancton

GROUPE "MATIERES ORGANIQUES"

Synthèse des recherches sur le phytoplancton

(période 1977-1978)

55478

par J.P.Mommaerts (Unité de Gestion des Modèles Mer et Estuaire) et
C. Lancelot-Van Beveren (U.L.B.)

avec la collaboration de :

A. Bertels (V.U.B.)

J. Nijs (V.U.B.)

C. Nihoul (V.U.B.)

M. Somville (U.L.B.)

Sommaire

I. Introduction	1
I.1. Identification du système	2
I.2. Vers une meilleure compréhension des lois de régulation	3
II. Résultats	5
II.1. Stocks	5
1.1. Matière particulaire	5
1.1.1. Pigments chlorophylliens	5
1.1.2. Composition biochimique de la matière particulaire	7
II.2. Identification des voies dominantes de translocation dans les trois biotopes étudiés	10
2.1. Mesures globales des flux de carbone	10
2.1.1. Proportions relatives de production primaire particulaire et de production dissoute apparente	10
2.1.2. Contribution des bactéries "libres" à l'assimilation de bicarbonate marqué	12
2.2. Nature des métabolismes (spéciation) à l'oeuvre selon les saisons et les différents biotopes	13
II.3. Problèmes de cohérence	16
3.1. Rappel des problèmes principaux	16
3.2. Discussion théorique conduisant à la 2ème hypothèse	18
3.3. Respiration des "bactéries libres"	20
3.4. Respiration phytoplanctonique et photorespiration	20
3.5. Cinétiques de production dissoute et calcul de la consommation hétérotrophe sur ce type de substrat	22
3.5.1. Cinétiques et causes de sous-estimation de production dissoute	
3.5.2. Calcul de l'uptake hétérotrophe réalisé sur la production dissoute	23
3.6. Valeurs intégrées des flux de production particulaire et dissoute dans les trois zones étudiées	26
3.6.1. Production particulaire intégrée par m^2 et par jour	26
3.6.2. Production dissoute intégrée par m^2 et par jour	27

II.4. Régulation des métabolismes par les facteurs du milieu	29
4.1. Influence de la lumière	29
4.1.1. Influence de la lumière sur la production particulaire	29
4.1.2. Influence de la lumière sur la production dissoute	32
4.1.3. Autres processus influencés par la lumière	33
4.2. Influence de la concentration en nutriment limitant	33
4.2.1. Régulation de la photosynthèse et de l'uptake de nutriments	33
4.2.2. Nature des produits de synthèse	34
III. Conclusions	35
III.1. Résultats et problèmes en suspens	35
III.2. Thèmes de recherches futures	36
Références bibliographiques	38

I. Introduction

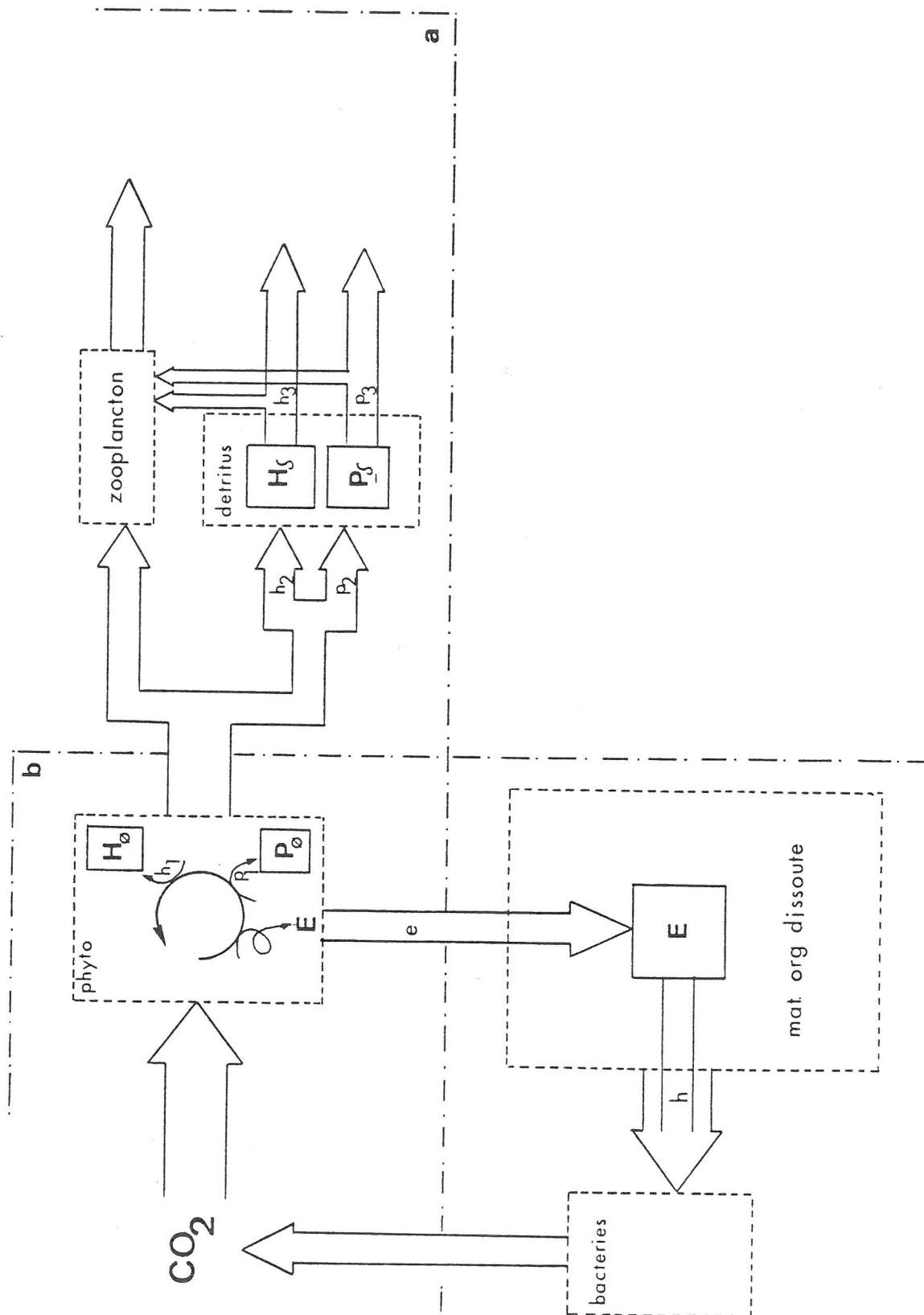
Le groupe "Matières organiques" s'est donné une série d'objectifs précis visant à :

- 1° une meilleure identification des stocks réactifs et des voies de translocation dominante dominantes dans l'écosystème marin (ex : reconnaître la branche dominante dans la fourchette phytoplancton-bactéries ou phytoplancton-zooplancton).
- 2° une meilleure compréhension des mécanismes de régulation (ex : mécanismes responsables des bifurcations sus-mentionnées).

On le voit, ces objectifs correspondent aux deux premières étapes de toute étude systématique, la troisième étant la formulation d'un modèle mathématique décrivant le système et permettant d'en étudier certaines propriétés macroscopiques.

Situés dans cette perspective, les objectifs du groupe "Phytoplancton" peuvent être formulés avec plus de rigueur et les lacunes actuelles apparaître plus facilement.

figure 1



I.1. Identification du système

L'effort d'identification comporte fondamentalement trois aspects :

- 1) Reconnaître et quantifier les stocks impliqués dans les translocations (Tech. Rep. OM/1978 : 05, 17, 22).
- 2) Savoir reconnaître les voies de translocation dominantes (notamment la "fourchette" phytoplancton-bactéries ou phytoplancton-zooplancton) d'où la nécessité de pouvoir comparer la Baie Sud de la Mer du Nord avec des milieux potentiellement différents (Manche et Escaut).

Cet effort devrait également aboutir à l'identification de meilleurs paramètres de mesure pour les recherches futures.

Ici, le groupe "phytoplancton" fournit des valeurs pour les flux de production particulaire et de production dissoute (Tech. Rep. OM/1978 : 03, 09, 15, 18, 22) ainsi que pour leurs composantes (divers métabolismes).

- 3) S'assurer d'une bonne cohérence des mesures.

La mesure de production phytoplanctonique est-elle cohérente avec les taux d'utilisation mesurés pour les compartiments qui suivent dans la chaîne trophique (bactéries et/ou zooplancton) et avec les taux de consommation enregistrés au niveau des nutriments ?

Les vérifications suivantes s'imposent, en ce qui concerne :

- les stocks : pour chaque élément (notamment N et P), la somme des concentrations dans les phases inorganique dissoute + organique dissoute + particulaire colonne d'eau + particulaire sédiment, doit rester constante au cours du temps (compte tenu des entrées et sorties).
- les flux : pour chaque élément, la somme des flux de consommation et de production (+ entrées et sorties) doit à chaque instant se conformer à la courbe de flux net que l'on peut aisément déduire de l'évolution

temporelle de concentration, mesurable in situ.

Cette vérification est utile à l'échelle nycthémérale comme à l'échelle saisonnière.

Cet exercice est actuellement tenté en ce qui concerne l'azote (voir rapport SURV/07 et rapport de synthèse du groupe "nutrients").

- les flux moyens en bilan annuel : pour chaque élément on peut déterminer un flux journalier moyen tel qu'on l'observerait en état stationnaire du système entier. On s'attend à ce que ces flux soient cohérents entre eux et que notamment la somme des consommations équilibre la somme des productions.

C'est au niveau des deux derniers points que se situe la problématique d'une estimation correcte des flux de production primaire (sous-estimation d'excrétion, de respiration ?) versus l'estimation correcte des flux dûs à l'activité hétérotrophe bactérienne (représentativité de la respiration totale à l'obscurité, validité des mesures de vitesse initiale de consommation ?). C'est pour tenter d'éclaircir ce problème que des mesures cinétiques de production primaire particulière et d'excrétion de matières dissoutes ont été faites (Tech. Rep. OM/1978 : 03, 15, 22). D'autre part, les limites théoriques de la distorsion entre production observée et production réelle ont été discutées (Tech. Rep. OM/1978 : 13).

I.2 Vers une meilleure compréhension des lois de régulation

Plusieurs orientations peuvent actuellement être discernées :

1. les recherches sur la spéciation (Tech. Rep. OM/1978 : 05, 22) font considérer plusieurs aspects :
 - la nature des produits excrétés est en rapport avec l'intensité des métabolismes bactériens hétérotrophes (problèmes des différents temps de turnover)
 - la nature de la biomasse phytoplanctonique est en rapport avec

l'intensité du métabolisme zooplanctonique (problème de valeur alimentaire).

- la comparaison des temps de turnover des divers métabolites dans les diverses composantes de la matière particulaire peut indiquer le type d'utilisation qui en est fait.

2. les recherches sur les relations qui existent entre la taille des organismes phytoplanctoniques (net-ou nanoplancton) et les exigences alimentaires (sélectivité) du zooplancton, sont à préciser.
3. les recherches sur les relations fonctionnelles entre différents métabolismes du phytoplancton et différents facteurs du milieu (ou spécifiques) sont à des stades d'avancement divers selon que
 - 1°) la variable étudiée est nouvelle (vitesse de synthèse de métabolites divers, excrétion) ou pas (production particulaire)
 - 2°) la relation est aisément mise en évidence (lumière) ou pas (nutriment limitant).

Ce troisième point implique un volume important de recherches, parfois plus routinières, ce qui ne va pas sans poser le problème des priorités d'action. On peut toutefois préciser ici que la recherche de meilleures cohérences ne doit pas nécessairement précéder la recherche sur les lois de régulation du système. En effet, on peut travailler avec des valeurs absolues non validées pour autant qu'elles restent utilisables en valeur relative (ex : la relation production primaire-lumière).

II . Résultats

II.1 Stocks

1.1. Matière particulaire

1.1.1. Pigments chlorophylliens

Le tableau I rassemble toutes les données disponibles en ce qui concerne les croisières de 1977 et 1978 à Ostende, Calais et Hansweert (ou Nieuwe Sluis) (rapports OM/78 : 05, 09, 17, 22)

	1	2	3
Ostende : 180777	21.50 (12.02)		
181077	3.92 (2.60)	4.47 (4.00)	1.80 (1.27)
050478	16.19		
190478	4.97		
160578	5.89	6.15 (6.00)	
110778		2.78 (1.88)	1.33 (0.54)
Calais : 260777	.34 (23)		
101077	.77 (.44)	0.93 (0.53)	0.87 (0.40)
170578		2.25 (2.00)	
120778		0.64 (0.54)	0.61 (0.47)
Hansweert: 190777	18.51(9.35)		
211077	4.48(3.03)	4.67 (1.87)	3.90 (0.80)
070478	7.21		
210478	6.31		
190578	7.17	3.36 (1.34)	
Nieuwe sluis 130778		3.60 (2.41)	2.32 (1.47)

Tableau I : Valeurs de chlorophylle a (active + phaeo-pigments)
 et de chlorophylle a active (Lorenzen) (entre parenthèses)
 en mg/m³
 colonne 1 : phyto.total (rapports OM/1978 :05 et 22)
 colonne 2 : phyto.total (rapports OM/1978 :09 et 17)
 colonne 3 : nannoplancton (rapports OM/1978 : 09 et 17)

A partir de ce tableau on a pu établir les contributions relatives du nanno- et du microplancton pour deux croisières (tableau II) :

	Juillet 78		Octobre 77	
	nanno(%)	micro(%)	nanno(%)	micro(%)
Calais	87	13	50	50
Ostende	29	71	30	70
Hansweert	61	39	42	58

Tableau II : Répartition en nanno- et microplancton.

Remarque : Sur base de ces tableaux le phytoplancton semble assez également distribué entre nanno- et microplancton. Les études réalisées lors de la période 1971-1975 en Mer du Nord ont cependant montré qu'il n'en est pas du tout ainsi et qu'il faut tenir compte de cet aspect pour une bonne compréhension du système. Il en va de même pour une compréhension de l'évolution saisonnière (voir aussi rapport SURV/1978 : 03).

1.1.2 Composition biochimique de la matière organique particulaire.

Le tableau III emprunte ses données au rapport OM/1978 n° 22. A ces résultats viennent s'ajouter quelques mesures de carbone organique (POC) et d'azote organique effectuées par le "Biologische Anstalt Helgoland" pendant les mois de mars et avril 1978.

Comparées au carbone estimé à partir des métabolites biochimiques, ces quelques mesures suggèrent que les protéines, hydrates de C et lipides représentent plus de 50% (Calais) et 75% (Ostende) du stock total de carbone organique particulaire. Les composés organiques non dosés sont probablement des substances organiques complexes précipités tels que les acides humiques.

Ces substances étant formées à partir des polyphénols et des produits de dégradation des protéines et des carbohydrates, les valeurs du rapport C/N peuvent osciller entre 5 et 12.

Le tableau III montre aisément que cette matière organique détritique "complexe" doit avoir à Calais le même rapport C/N que celui calculé pour la somme des métabolites biochimiques. A Ostende par contre, les valeurs plus élevées du rapport C/N de la matière organique particulaire totale indiquent que la matière détritique réfractaire est composée principalement des produits de dégradation des carbohydrates.

Cependant, comme, en raison de sa nature phénolique, cette matière détritique complexe n'est que peu ou pas biodégradable, la fraction de la matière organique particulaire qui est composée de protides, lipides et carbohydrates sert plus utilement à une comparaison des trois biotopes.

Outre la tendance globale d'une richesse décroissante de Hansweert vers Calais, on observe une tendance nette à l'augmentation du rapport C/N (et corrélativement une diminution du rapport P/H), ce qui implique une plus grande richesse relative en hydrates de Carbone dans la Manche.

Ceci peut surprendre puisque on pourrait s'attendre à ce que, la participation des apports terrigènes diminuant, la proportion des protéines aille plutôt en augmentant.

Néanmoins, la comparaison des rapports C/N probables (voir remarque) de la matière détritique suggère que les détritus de l'Escaut sont remarquablement

COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE PARTICULAIRE.

Taux moyen de carbone détritique : en % du total

Ostende : 53% min. = 47% max. = 60%

Hansweert : 54% min. = 12% max. = 91%

* = résultats allemands

plus riches en azote protéique que dans le milieu marin où la composition biochimique des détritus est identique à celle du phytoplancton.

Tout ceci permet de formuler les hypothèses suivantes :

- 1°) Si on admet que la composition biochimique du phytoplancton induit celles des détritus dans un milieu marin, la différence de $\frac{C}{N}$ observée à Ostende et Calais dépend de la richesse du milieu en éléments nutritifs.
- 2°) la différence de $\frac{C}{N}$ observée entre Ostende et Hansweert est essentiellement due aux détritus terrigènes, devenant dominants dans la matière en suspension alors que la composition biochimique du phytoplancton est identique puisque les nutriments ne sont pas limitants.

Remarque :

La discussion précédente repose principalement sur la connaissance des contributions phytoplanctoniques et détritiques dans la matière organique totale. Le problème de la séparation mécanique phytoplancton - détritus n'étant pas encore résolu actuellement, phytoplancton et détritus sont estimés au mieux par régressions linéaires (rapport ARC 1977; OM/1978:05).

Ainsi, le rapport C/N probable de la matière détritique est calculé statistiquement au moyen de régressions en faisant l'hypothèse d'une similitude de composition biochimique du phytoplancton à Ostende et à Hansweert basée sur les égalités de pattern de synthèse (rapport OM/1978 : 22).

II.2 Identification des voies dominantes de translocation dans les trois biotopes étudiés.

2.1. Mesures globales des flux carbone

2.1.1. Proportions relatives de production primaire particulaire et de production dissoute apparente

Le tableau IV permet de comparer les trois biotopes aux différentes époques de l'année en ce qui concerne les proportions relatives mesurées après 3 - 4 heures d'incubation (rapport OM/78 : 03 et 15 + tabl. x1)

	avril (2)		mai (2)		juillet(1 & 2)		octobre (1)	
	p	d	p	d	p	d	p	d
Calais	65-85	15-35	47	53	28(1)	72(1)	71	29
					86(2)	14(2)	47	53
Ostende	30-85	15-70	43	57	97(1)	3(1)	54-75	25-46
					95(2)	5(2)	75	25
Hansweert	68-100	0-32	92	8	88(1)	12(1)	84-96	4-16

(1) = 1977

(2) = 1978

Tableau IV : Proportions (%) de production particulaire (p) et dissoute (d).

Quoique la quantification correcte de la production dissoute implique des mesures plus fines (cinétiques permettant des corrections éventuelles pour des effets de latence ainsi que pour la consommation bactérienne : voir plus loin), ces chiffres

permettent une comparaison^{avec} les données de la littérature acquises dans des conditions semblables. La gamme des valeurs les plus fréquemment observées est comprise entre 15 et 70% d'excrétion.

Cependant, les valeurs de juillet sont nettement plus basses.

Un développement supplémentaire consiste à répartir le flux d'excrétion entre nanoplancton et microplancton. Le tableau V donne les contributions relatives du nanoplancton, respectivement à la production particulaire et à la production dissoute.

	avril 1978		juil. 1977		octobre 1977	
	p.p.	p.d.	p.p.	p.d.	p.p.	p.d.
Calais	42	61	100	74	16	66
	90	85				
Ostende	37	31	39	15	97	56
	63	63				
Hansweert	74	60	-	-	36	100
	62	-				

Tableau V : Part du nanoplancton (%) dans la production particulaire (p.p) et dans la production dissoute (p.d.).

Au vu de ces premiers résultats, il semble que la contribution du nanoplancton à la production dissoute ne soit pas significativement et systématiquement plus faible ou

plus forte que sa contribution à la production particulaire (voir notamment la série d'avril 1978). De même, il n'y a pas de tendance saisonnière ou régionale affirmée.

2.1.2. Contribution des bactéries "libres" à l'assimilation de bicarbonate marqué

Tout comme on a pu séparer le nanoplancton du microplancton par fractionnement des échantillons, il a été possible de calculer par différence, entre les résultats d'une filtration sur "pores" de $1\ \mu$ et de $0.2\ \mu$, la fixation de bicarbonate marqué par la fraction intermédiaire, vraisemblablement constituée de bactéries libres.

Ces résultats sont acquis sur base des mesures de vitesse initiale d'assimilation (tableau VI) réalisées en avril et mai 1978 (voir aussi Tech. rep. OM/1978 : 03).

	$> 1\ \mu$	$> 0.2\ \mu$	différence(= bactéries libres)	
Calais	$6.54 \pm .20$	$8.24 \pm .25$	$1.70 \pm .05$	(21%)
	$1.93 \pm .06$	$2.06 \pm .06$	$.13 \pm .004$	(6%)
	$2.19 \pm .06$	$2.89 \pm .09$	$.70 \pm .02$	(24%)
Ostende	35.79 ± 1	35.79 ± 1		
	$5.07 \pm .15$	$9.24 \pm .28$	$4.17 \pm .12$	(45%)
	$8.48 \pm .25$	$8.48 \pm .25$		
Hansweert	$1.80 \pm .005$	$1.80 \pm .05$		
	$4.76 \pm .14$	$5.67 \pm .23$	$.91 \pm .03$	(16%)

Tableau VI : Vitesse initiale mesurée in vitro (mg/ C/m³h) + intervalles de confiance à 95%.

la contribution des bactéries libres serait donc loin d'être négligeable (6 à 45 % dans les cas de différences statistiquement significatives).

Pour autant que 1°) il s'agisse bien de fixation ana-plérotique

2°) les débris phytoplanctoniques ne contribuent pas significativement à la fraction intermédiaire

On peut utiliser ces valeurs pour une estimation de respiration bactérienne (voir § "cohérence").

2.2. Nature des métabolismes (spéciation) à l'oeuvre selon les saisons et les différents biotopes.

L'information disponible actuellement est résumée dans le tableau VII.

Station		petits métabolites %	polysaccharides %	protéines %
Calais	moy.	28	48	24
	min.	19	45	17
	max.	36	50	37
Ostende	moy.	23	34	43
	min.	19	30	35
	max.	30	37	49
Hansweert	moy.	29	31	40
	min.	20	29	33
	max.	34	35	47

Tableau VII. : Ce tableau montre que les conditions de croissance des cellules phytoplanctoniques influencent fortement la synthèse des nouvelles molécules organiques soit vers les protéines soit vers les polysaccharides.

Ceci apparaît mieux lorsqu'on compare les rapports de vitesse P^+/H^+ (tableau VIII). Ce rapport semble donc être un bon indicateur des différences existant entre les différents éco-systèmes.

L'origine de ces différences est à rechercher au niveau des mécanismes de régulation (voir § "régulation").

Tableau VIII :

Station	activités phytoplancton		total		stocks phytoplancton	
	P^+/H^+ $\mu\text{gC/Lh} / \mu\text{gC/Lh}$		P/H $\mu\text{gC/L} / \mu\text{gC/L}$		P/H $\mu\text{gC/L} / \mu\text{gC/L}$	
<u>Calais</u>						
moyenne	.49		.75			
min - max	.37	- .72	.71	- .82		
<u>Ostende</u>						
moyenne	1.28		1.24		1.21	
min - max	1.05	- 1.57	.90	- 1.70	1.02	- 1.43
<u>Hansweert</u>						
moyenne	1.31		1.87		1.25	
min - max	.94	- 1.52	.75	- 3.65	1.02	- 1.43

Les rapports de vitesse P^+/H^+ ont été utilement mis en rapport avec la composition biochimique des stocks de la matière particulaire (phytoplancton et détritus). L'identité des rapports de vitesse et de stock du phytoplancton montre que la mesure des vitesses reflète bien la composition biochimique du phytoplancton. L'analogie entre les rapports 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. Les différences sont dues soit à des apports terrigènes (milieu estuarien) soit d'une utilisation préférentielle de la matière organique formée.

Estimation des temps de turnover et utilisation de la matière organique formée :

L'identité des rapports des flux et des stocks dans le phytoplancton peut servir de point de départ à une discussion sur les temps de turnover des diverses composantes de la matière organique particulaire dans les milieux marins et sur l'utilisation qui en est faite par les consommateurs du niveau trophique secondaire.

A cet effet, si on considère le schéma a de la figure 1 dans lequel on formule 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 (τ_{ϕ})

L'expression des vitesses de turnover des protéines et des hydrates C détritiques peut s'écrire :

$$\tau_{P\delta} = \frac{p_1}{P_{\delta}}$$

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

et si $\tau_{P\delta} / \tau_{H\delta} \neq 1$: on peut déduire une affinité différente des utilisateurs vis-à-vis des métabolites formés.

Le rapport des taux de renouvellement horaire des protéines et des hydrates de Carbone dans la matière détritique a été calculé pour les stations d'Ostende et de Calais :

Tableau IX :

	Ostende	Calais
moyenne	1.52	.53
minimum	1.22	.03
maximum	1.67	1

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 détritivores.

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 détritivores 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.

II.3 Problèmes de cohérence

3.1. Rappel des problèmes principaux.

L'incohérence entre les chiffres de métabolisme hétérotrophe et de métabolisme autotrophe globaux est apparue pour la première fois lors de la tentative de bilan annuel faite pour la Baie Sud de la Mer du Nord (Projet Mer, Rapport final vol.8). Ainsi, pour la zone 1-S on avait :

Tableau X :

	Carbone	Azote
	(g / m ² j)	(g / m ² j)
production primaire (a)	370 (1)	34 (2)
Σ activités hétérotrophes (b)		
plancton	2700 (3)	?
benthos	150	21
	2850	?
Distorsion : b/a	7.7	?

Cette distorsion -qui n'est en fait établie que pour le cycle du carbone- indique soit une sous-estimation de la production primaire brute soit une surestimation de l'activité hétérotrophe (voir discussion in Joiris, 1977).

D'autre part, sur base des courbes annuelles de concentration en O₂ dissous et tenant compte des échanges avec l'atmosphère, Billen (in Rapport final 8) conclut à une surproduction primaire comprise entre 10 et 70 g C/m² an.

DISCUSSION

Les deux observations se complètent pour indiquer que la production primaire brute est fortement sous-estimée.

Mais à partir de là, on peut faire deux hypothèses très différentes :

1°) environ 90% de la respiration planctonique sont dûs aux bactéries hétérotrophes marines (1ère hypothèse défendue, chronologiquement)

-
- (1) : la production primaire en carbone est la production brute supposée (production particulaire + 15% excrétion + 30% respiration hypothétique)
- (2) : la production primaire en azote est calculée sur base de la production nette (supposée égale à la production particulaire + 15% d'excrétion)
- (3) : données de 1974, sur base des V_iO₂ (voir rapport final ,vol. 8)

donc : la sous-estimation concerne l'excrétion de matières organiques solubles par le phytoplancton.

2°) le phytoplancton est responsable pour une large part (respiration, photorespiration) de la respiration planctonique globale.

donc : la sous-estimation ne concernant que la respiration du phytoplancton, il n'y a pas nécessairement incohérence dans le cycle des éléments autres que le carbone et dès lors, un modèle de circulation d'azote basé sur la production primaire nette serait correct.

3.2. Discussion théorique conduisant à la 2ème hypothèse

Dans le rapport OM/1978 : 13 on considère les équations suivantes, établies pour un système (phytoplancton-bactéries) fermé et à l'état stationnaire :

1°) On considère l'équation d'évolution, simplifiée, du compartiment phytoplanctonique :

$$\frac{dB}{dt} = (k-e-r)B$$

où B = biomasse

k = taux de production (=productivité) primaire brute

e = taux d'excrétion

r = taux de respiration

rem : e et r peuvent aussi s'exprimer comme des fractions de k , soit respectivement αk et βk avec $\alpha + \beta = 1$

2°) Dans le cas d'une expérience de production primaire, on doit retrouver les résultats partiels suivants en ce qui concerne les taux, pour autant qu'il n'y ait aucune perte (de composés volatiles, par exemple):

a) sur le filtre : production primaire nette apparente

$$k' = k - \alpha k - \beta k$$

ou αk = excrétion

βk = respiration

b) dans le filtrat : excrétion apparente

$$e' = \alpha k - x\alpha k$$

où $x\alpha k$ = fraction d'excrétion assimilée par les bactéries
 hétérotrophes

c) en partie sur filtre et dans filtrat (?) : production bactérienne nette

$b' = x\alpha k - yx\alpha k$ où $yx\alpha k$ = fraction perdue par respiration
 bactérienne

Le total ($k' + e' + b'$) -c'est-à-d ce qui est mesurable et correspond
 à la notion expérimentale de productivité primaire -vaut, après
 simplification,

$$K' = k(1 - \beta - yx\alpha)$$

A partir de ces équations on démontre aisément que :

1°) dans les hypothèses extrêmes et improbables où :

a) 100% de la production primaire seraient excrétés de façon
 continue et où

b) ces 100% seraient rapidement métabolisés par les bactéries,
 (en supposant une efficience de 30%)

la production primaire brute réelle ne pourrait être 3.33 fois plus
 grande que la production primaire mesurée.

2°) Par contre, si 100% (ou la plus grande part) de la production
 primaire étaient respirés, la production brute réelle serait
 évidemment infiniment (ou beaucoup) plus grande que la produc-
 tion mesurée.

3°) On constate enfin que, pour autant que l'excrétion de composés
 labiles par le phytoplancton soit la seule source de subs-
 trat, la respiration bactérienne ne peut, en régime, être
 plus de 2.33 fois plus grande que la production primaire
 mesurée.

Donc, il paraît peu probable que l'excrétion puisse représenter une source de matière organique aussi importante qu'on a pu l'imaginer, puisque la distorsion ne peut facilement dépasser un facteur 3.

D'autre part, dans un système phytoplancton-bactéries (sans apports de M.O. extérieure), la contribution des bactéries à la respiration globale ne peut dépasser une certaine limite, tandis que la contribution potentielle du phytoplancton est illimitée.

3.3. Respiration des "bactéries libres"

On a vu au § 2.1.2. que la contribution à la fixation de $^{14}\text{CO}_2$ d'une fraction comprise entre 0.2 et 1 μ pouvait varier entre 6 et 45%. S'il s'agissait effectivement de fixation anaplérotique bactérienne, on calcule que la respiration correspondante (anapl. $\approx$ 5% resp.) vaudrait respectivement 1.2 à 9 fois la "production primaire" mesurée. Cette donnée est évidemment en contradiction avec le résultat de la discussion du § précédent et en harmonie avec la 1ère hypothèse. Dans la discussion, il y a cependant une condition restrictive qui n'est pas nécessairement rencontrée dans l'expérience, à savoir, que les bactéries ne dépendent que de l'excrétion phytoplanctonique et que le système est à l'état de régime.

3.4. Respiration phytoplanctonique et photorespiration

Le rapport MO/1978 23 fait la synthèse des connaissances récentes en matière de photorespiration. Se référant particulièrement à un article de Radmer et Kok (1976), il souligne que la photoréduction de O_2 à la lumière est un phénomène quantitativement important. Ainsi, à 80 % de la saturation lumineuse, une culture de *Scenedesmus obliquus* présente un bilan équilibré des flux de production d' O_2 et d'uptake d' O_2 et de CO_2 dans les premières minutes de l'expérience :

$$\begin{array}{ccccccc} \text{production d'O}_2 & = & \text{uptake } \text{O}_2 & + & \text{uptake } \text{CO}_2 \\ 100\% & & 25\% & & 75\% \end{array}$$

où O_2 et CO_2 sont en compétition pour l'utilisation du pouvoir réducteur généré par la photosynthèse. On suppose qu'il s'agit d'un mécanisme destiné à protéger l'appareil photosynthétique contre un excès de "force réductrice" en lumière forte. L'acide glycolique est un intermédiaire des réactions impliquées dans ce métabolisme. Son excrétion par le phytoplancton pourrait donc être un autre aspect du même phénomène.

D'autre part, la respiration vraie (mitochondriale) serait un phénomène beaucoup plus discret ($< 5\%$ du taux de production d' O_2), et supprimé à la lumière !

La détermination expérimentale la plus simple du taux de photorespiration se fait d'ailleurs en mesurant une libération de CO_2 marqué, à la lumière (ex. Cheng and Colman, 1974) par des algues préalablement marquées.

Enfin, les expériences de Odum et Beyers (1965), quoique déjà anciennes, méritent qu'on y fasse référence : travaillant sur divers microcosmes, ces auteurs ont invariablement enregistré une évolution nycthémérale de la production nette à la lumière et de la respiration globale à l'obscurité (fig. 2) telle qu'elle suggère un mécanisme semblable à la charge et à la décharge d'un condensateur (leur modèle analogique), avec de fortes vitesses initiales de respiration dès la mise à l'obscurité.

Les faits tels que reportés ci-dessus ne suffisent pas à éclaircir totalement le problème : 1°) s'il s'agissait de photorespiration, le taux de photoréduction d' O_2 devrait être vraiment beaucoup plus élevé pour expliquer une distorsion importante entre activité autotrophe et hétérotrophe globale.

2°) les faits ne sont pas toujours cohérents : ainsi, la photoréduction d' O_2 est supprimée à l'obscurité et la respiration mitochondriale du phytoplancton ne serait que très faible, alors que, expérimentalement, les consommations sont mises en évidence à l'obscurité !

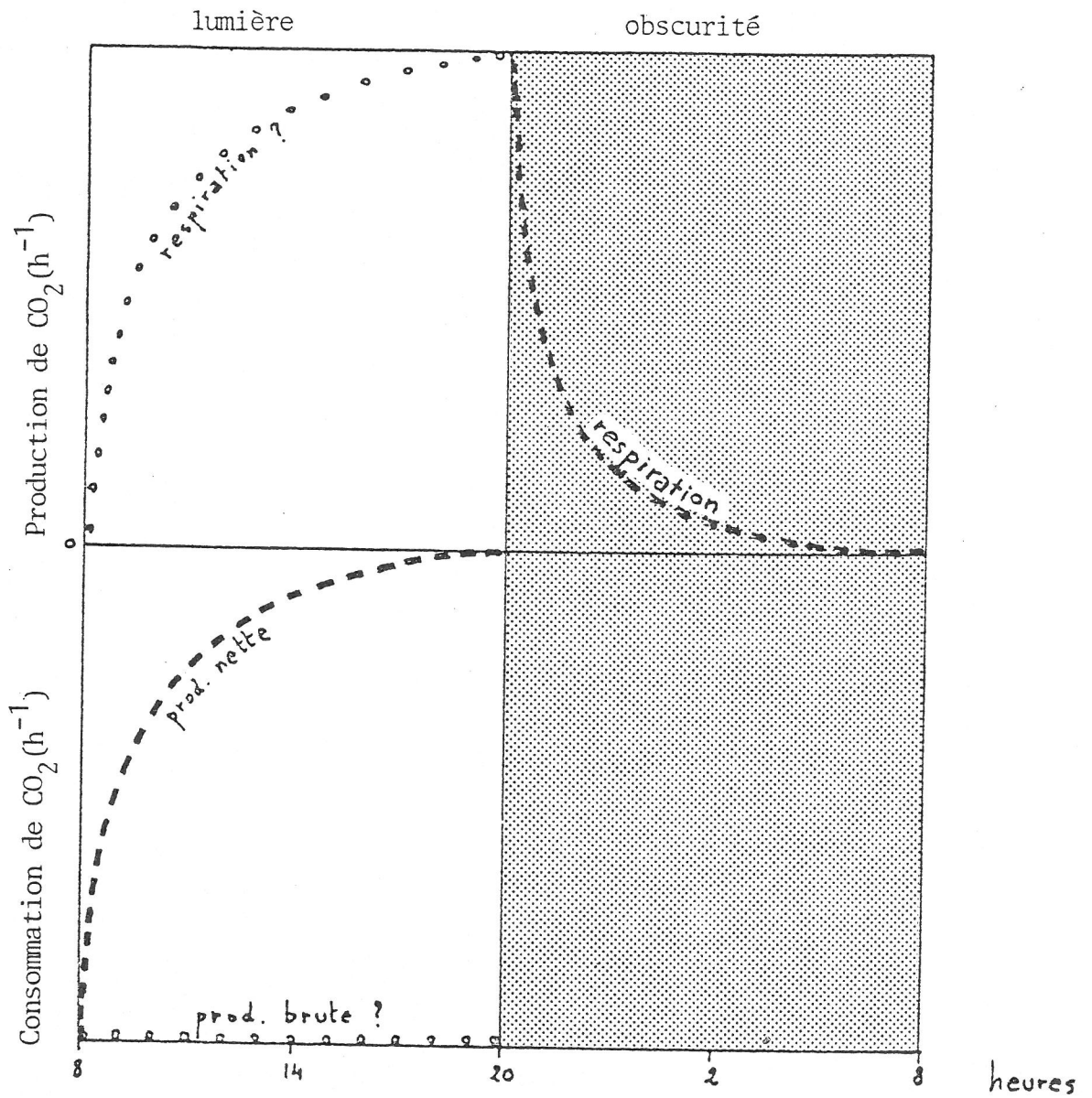


Fig. 2. Expériences de Beyers (1965) : Observant une production nette décroissante, mais supposant une production brute constante (car fonction d'une lumière constante), on déduit une augmentation progressive de la respiration à la lumière. A l'obscurité, cette respiration est mesurée et décroît rapidement.

3.5. Cinétiques de production dissoute et calcul de la consommation hétérotrophe sur ce type de substrat.

3.5.1. *Cinétiques et causes de sous-estimation de production dissoute*

Des cinétiques de production particulaire et dissoute ont été réalisées "in vitro" (12 000 lux) afin de vérifier la validité de mesures effectuées après un temps d'incubation fixé à 4 heures (temps généralement usité pour la mesure de la production particulaire dans les trois biotopes).

Trois types de courbes ont été obtenus :

1) La production dissoute varie linéairement mais après un temps de latence (fig. 3a) :

dans ce cas, la latence correspond à une phase de marquage uniforme de tous les pools carbonés du phytoplancton. Il y a sous-estimation du taux de production dissoute si les chiffres de fin et de début d'incubation sont les seuls à être pris en compte. La physiologie du phytoplancton (durée de latence, intensité de la photosynthèse) est seule déterminante de cette sous-estimation.

2) La production dissoute varie linéairement avec le temps (fig. 3b)

dans ce cas, la production dissoute mesurée après 4 heures est probablement correcte.

3) La production dissoute varie non linéairement au cours du temps, avec une décroissance apparente du taux (fig. 3c)

dans ce cas, il y a également sous-estimation du taux de production dissoute si on ne se base que sur les valeurs de début et fin d'incubation. Dans ce cas-ci, la consommation hétérotrophe bactérienne est plus probablement responsable de ce phénomène.

Les quelques résultats rassemblés dans le tableau XI montrent que les mesures de production dissoute effectuées après un temps d'incubation de 4 heures sont en moyenne sous-estimées de 20%. La sous-estimation due à la présence de bactéries peut occasionnellement

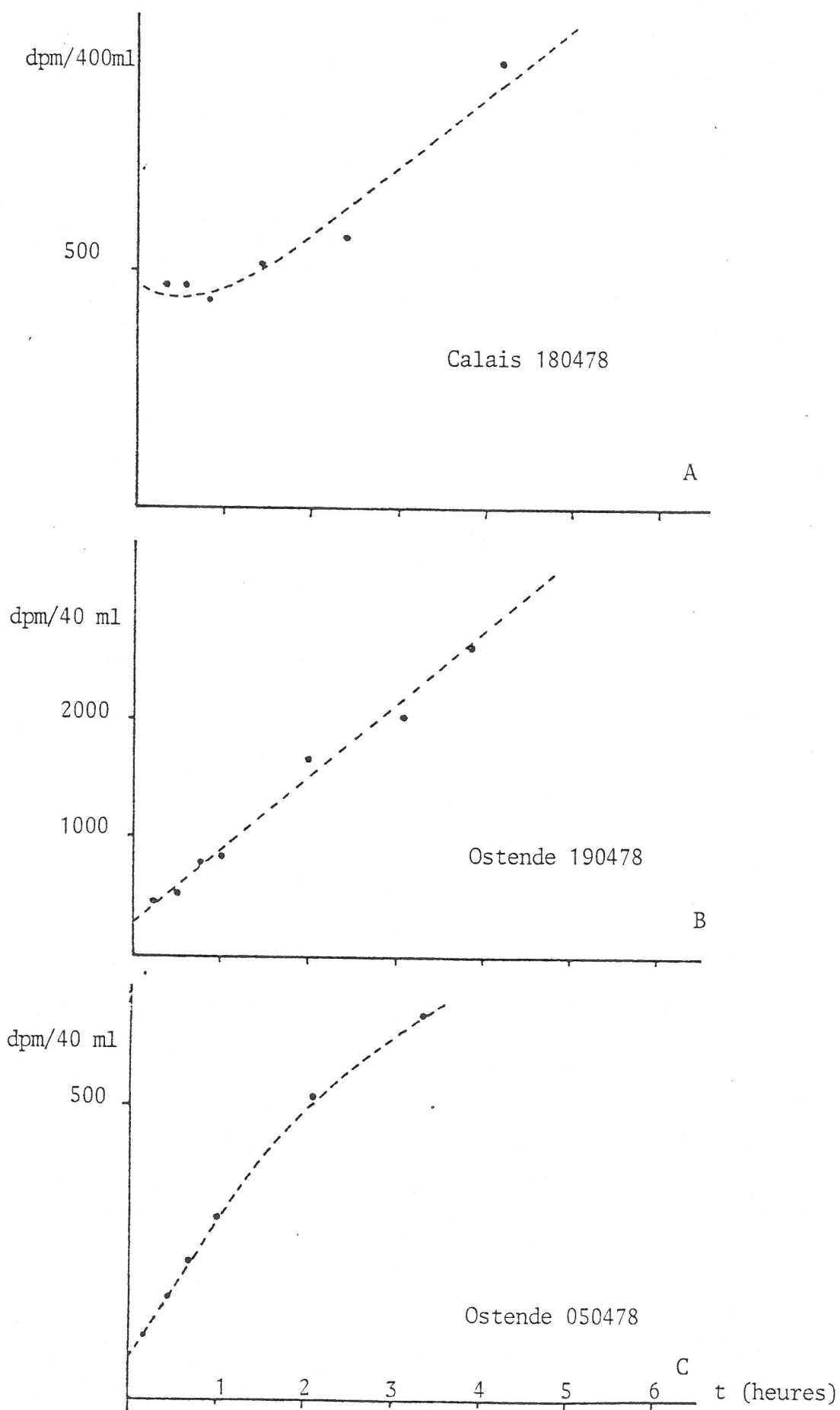


Fig. 3. Allures possibles des cinétiques de marquage de la fraction excrétée.

atteindre 50%; celle due à l'existence d'une latence est toujours plus faible.

Remarque :

Les différences parfois significatives entre les sous-estimations exprimées sous forme de taux ou de valeurs absolues de production dissoute (tableau XI) correspondent à une diminution de la production au cours de l'incubation.

Cette diminution peut être attribuée soit à des phénomènes respiratoires, soit à la présence de microzooplancton dans l'échantillon.

3.5.2. Calcul de l'uptake hétérotrophe réalisé sur la production dissoute

Outre la recherche de la "vraie" excrétion, l'intérêt des cinétiques de produits extracellulaires marqués réside dans la recherche du flux d'uptake des produits d'excrétion phytoplantonique.

Ces flux peuvent être estimés par calcul à partir de la courbe d'évolution des produits excrétés dans l'échantillon incubé. En effet, si on considère le modèle b de la figure 1 dans lequel on suppose E constant, l'évolution de la radioactivité des produits excrétés (E^+) est donnée par la relation :

$$\frac{dE^+}{dt} = e \cdot a_{CO_2} - h \cdot a_E$$

dans laquelle a_{CO_2} : activité spécifique de l'eau

a_E : activité spécifique du pool de produits excrétés = $\frac{E^+}{E}$

$$\text{d'où } \frac{dE^+}{dt} = e \cdot a_{CO_2} - \frac{h \cdot E^+}{E}$$

$$\text{or } \frac{h}{E} = \frac{1}{\tau} \quad (\text{activité relative d'utilisation de E})$$

$$\text{donc } \frac{dE^+}{dt} = e \cdot a_{CO_2} - \frac{1}{\tau} E^+ \quad (1)$$

Tableau XI

Stations	Vitesses initiales			Moyennes calculées pour une incubation de 4 h			sous-estimation de la production dissoute		Utilisation hétérotrophe $\mu\text{gr C/l.h}$
	PP $\mu\text{gC/lh}$	Pd $\mu\text{gC/lh}$	% excrét.	PP $\mu\text{gC/lh}$	Pd $\mu\text{gC/lh}$	% excrét.	taux %	val. absol. %	
Calais									
04.04.78	6.54 $\pm$.12	1.56 $\pm$.15	19%	6.54 $\pm$.12	1.31 $\pm$.13	17%	16% ⁺	16% ⁺	
18.04.78	1.93 $\pm$.03	.57 $\pm$.06	23%	1.71 $\pm$.03	.45 $\pm$.05	21%	11% ⁺	19% ⁺	
17.05.78	3.42 $\pm$.06	3.95 $\pm$.40	54%	2.38 $\pm$.04	2.65 $\pm$.30	53%	2%	33%	
moyenne	3.96	2.03	33%	3.54	1.47	29%	10%	23%	.25
Ostende									
18.10.77	9 $\pm$.16	6.8 $\pm$.7	43%	7.28 $\pm$.13	6.2 $\pm$.6	46%	0%	9%	
05.04.78	35.8 $\pm$.60	10.4 $\pm$ 1	22%	35.80 $\pm$.60	5.2 $\pm$.5	13%	50%	50%	
19.04.78	5.07 $\pm$.10	4.1 $\pm$.4	44%	4.40 $\pm$.10	3.5 $\pm$.3	44%	0%	15%	
16.05.78	9.67 $\pm$.17	14.8 $\pm$ 1.5	60%	9.30 $\pm$.17	12.6 $\pm$ 1.5	57%	11%	15%	
moyenne	14.9	9.05	38%	14.2	6.9	33%	15%	22%	1.05
Hansweert									
21.10.77	13.91 $\pm$.25	.48 $\pm$.05	4%	11.98 $\pm$.21	.53 $\pm$.05	4%	0% ⁺	0% ⁺	
07.04.78	3.33 $\pm$.06	2.22 $\pm$.20	40%	2.8 $\pm$.05	1.35 $\pm$.13	32%	28% ⁺	39% ⁺	
21.04.78	4.76 $\pm$.08	0	0%	4.76 $\pm$.08	0	0%	0%	0%	
19.05.78	9.16 $\pm$.16	1.31 $\pm$.13	12%	8.6 $\pm$.15	.75 $\pm$.08	8%	37%	43%	
moyenne	7.80	1	11%	7	.66	9%	16%	20%	

+ sous-estimation due au temps de latence.

si on pose : $e.a_{CO_2} = A$ et $\frac{1}{\tau} = B$

$$(1) \text{ devient : } \frac{dE^+}{dt} + BE^+ = A$$

dont la solution analytique est :

$$E^+ = \frac{A}{B} (1 - e^{-Bt})$$

applications :

Sur la dizaine de cinétiques de 4 heures effectuées, 3 seulement montrent une consommation hétérotrophe telle que le calcul de $1/\tau$ soit réalisable (tableau XII et figures 4, 5 et 6).

Dans les autres cas il eut fallu de plus longues incubations pour déceler une consommation éventuelle.

STATION	$1/\tau (h^{-1})$
Ostende 050478	.39
160578	.07
Calais 170578	.38

Tableau XII

Comparées aux mesures de temps de turnover de petits substrats effectuées par le groupe "bactéries" (G. Billen et C. Joiris), ces quelques valeurs de $1/\tau$ paraissent exceptionnellement élevées.

Par contre, les moyennes calculées pour l'ensemble des situations conduisent à des estimations de l'utilisation hétérotrophe moyenne plus conformes à ces mesures (tableau XI).

A ce stade-ci de nos expériences, une question se pose : une cinétique d'excrétion de 4 heures peut-elle d'une manière générale mesurer une consommation hétérotrophe dans les trois biotopes étudiés?

Pour y répondre, nous avons utilisé le modèle théorique en y injectant différentes valeurs de $1/\tau$: figure 7

fig. 4

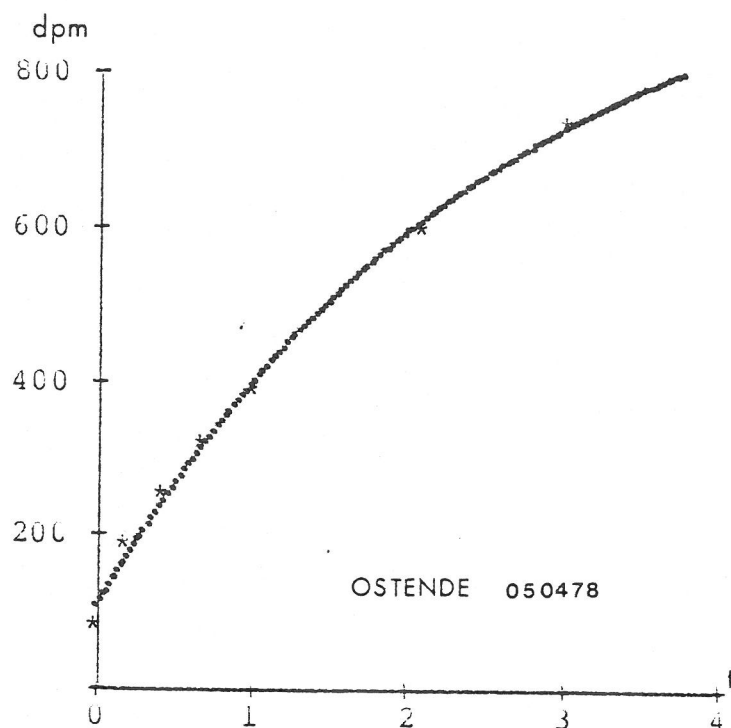


fig. 5

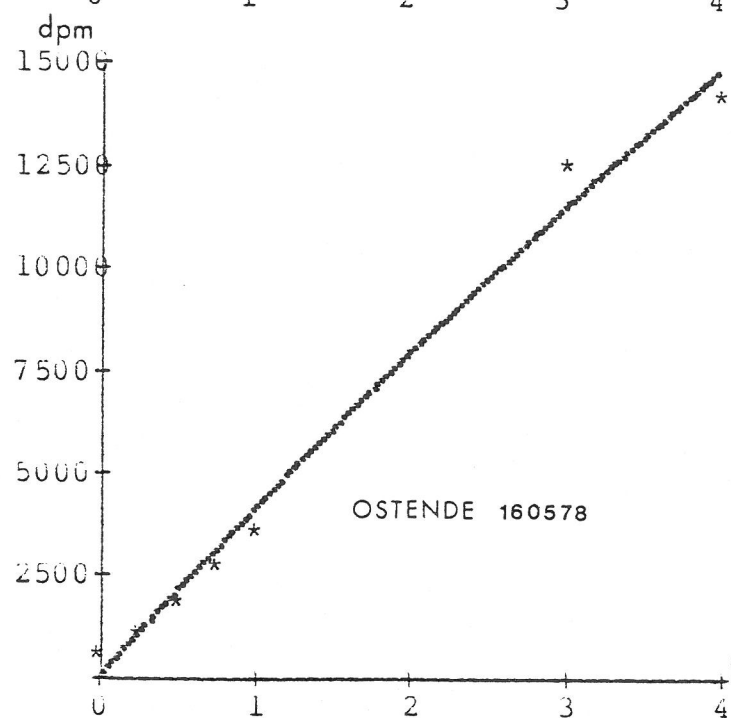


fig. 6

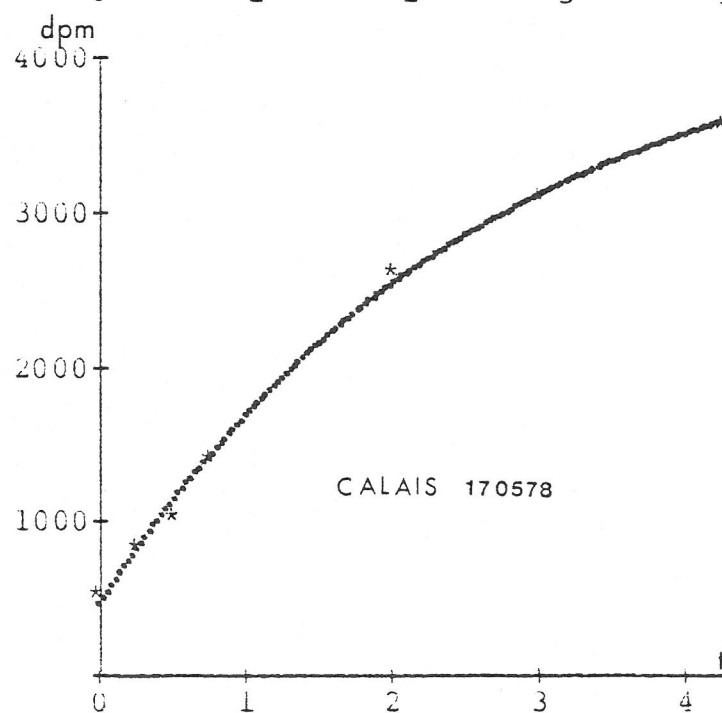
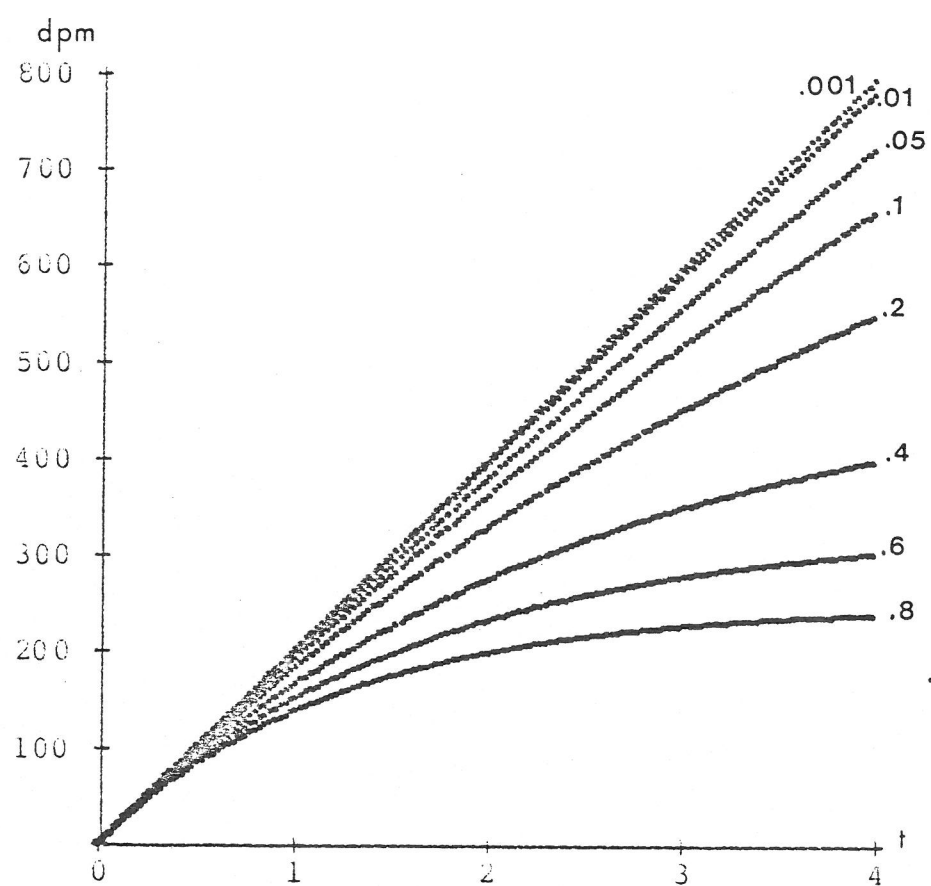


fig.7 : courbes d'évolution des produits extracellulaires marqués pour différentes valeurs de $1/\tau$



Tenant compte d'une erreur relative de 10% sur la mesure d'excrétion, il ressort de cet exercice que les valeurs de $1/\tau$ donnant lieu à une déviation significative de la droite d'excrétion phytoplanctonique sont $\gg .05$.

Ces valeurs sont généralement supérieures (du moins à Ostende et à Calais) aux mesures de temps de turnover des petits substrats (voir synthèse bactéries). Dans l'hypothèse où les différentes sortes de molécules excrétées sont effectivement représentées par ces petits substrats et où ces derniers constituent la grosse majorité des métabolites utilisées par les bactéries, on ne devrait pas observer de consommation hétérotrophe endéans les 4 heures. Les valeurs de $1/\tau$, .39 et .38, calculées pour les cinétiques d'excrétion correspondraient donc à des situations exceptionnelles expliquées soit par une non-stationnarité momentanée, soit par une importante excrétion de molécules n'entrant pas dans la catégorie des "petits substrats" et effectivement utilisées rapidement par les hétérotrophes.

3.6. Valeurs intégrées des flux de production particulaire et dissoute dans les trois zones étudiées.

Afin de permettre une comparaison avec les flux d'assimilation hétérotrophe mesurés dans le groupe "bactéries" nous avons procédé aux calculs suivants :

3.6.1. *Production particulaire intégrée par m^2 et par jour*

La forme de la relation [Prod. part. - lumière] étant relativement bien connue, on peut tenter d'appliquer le modèle de Vollenweider au calcul d'intégration sur la profondeur et la journée.

Les résultats présentés au tableau XIII sont cependant à prendre avec prudence, beaucoup de paramètres devant encore être mieux validés.

Dans la formule générale :

$$\int_0^{-\infty} \int_{t_0}^{t_t} p_z dz = \frac{p_{opt}}{\eta} \cdot \sum f(I'_{0t})$$

l'algorithme $\sum f(I'_{0t})$ est basé sur une série d'hypothèses concernant la forme de la relation photosynthèse-lumière (ici : "Vollenweider II", à titre provisoire) et l'évolution de la lumière dans la journée (ici : la courbe sinusôïdale moyenne, typique pour la saison). Cependant, le coefficient d'extinction et p_{opt} doivent être effectivement déterminés chaque fois.

On voit dans le tableau XIII que l'algorithme multiplicateur $\sum f(I'_{0t})$ ne varie pas énormément selon la saison ou le biotope. Ce sont en fait la transparence de l'eau et l'importance du stock (+ problèmes possibles d'hétérogénéité verticale à Calais), combinées à l'efficacité de production par unité de biomasse, qui conditionnent la production primaire particulière intégrée.

Les valeurs de production en mer figurant au tableau XIII sont des valeurs assez basses. Elles s'inscrivent cependant dans les gammes connues pour la Baie Sud de la Mer du Nord en juillet et octobre. Rappelons que la production particulière peut atteindre $3000 \text{ mg C/m}^2 \text{ j}$ lors du pic de printemps.

3.6.2. Production dissoute intégrée par m^2 et par jour

Prenant l'hypothèse - simplifiée (voir § 4.1.2) - d'une proportion constante de production dissoute, on a :

$$\text{production dissoute} = \frac{\epsilon \cdot \text{production particulière}}{1 - \epsilon}$$

où ϵ = fraction du total, excrétée

Tenant compte de la sous-estimation de 10 à 16 % sur les taux mesurés dans les expériences non cinétiques (voir tabl. XI) et utilisant les valeurs d'excrétion du tableau IV, on peut calculer les productions dissoutes intégrées, figurant au tableau XIII

	$\Sigma f(I'_0)$	Prod. partic.	ε corrige	Prod. diss.	Prod. totale	$\Sigma f(I'_0)$	Prod. partic.	ε corrige	Prod. diss.	Prod. totale	$\Sigma f(I'_0)$	Prod. partic.	ε corrige	Prod. diss.	Prod. tot.
<u>Calais</u>															
1977	-					17.5	260(?)	.81	1108	1368	13	117(?)	.33	58	175
1978	~20(?)					25	210	.16	40	250	-	-	-	-	-
<u>Ostende</u>															
1977	-					-	-	-	-	-	15.5	251(?)	.40	167	418
1978	~20(?)					28	474	.06	30	504	-	-	-	-	-
<u>Hansweert</u>															
1977	-					-	-	-	-	-	13	15(?)	.11	2	17
1978	~20(?)					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau XIII : Algorithme multiplicateur et production particulaire, dissoute et totale ($\text{mg C m}^{-2} \text{ j}^{-1}$)

(?): l'incertitude sur un calcul de production particulaire se transmet évidemment au calcul du production dissoute et totale.

II. 4. Régulation des métabolismes par les facteurs du milieu

Pour comprendre l'évolution du système et éventuellement la modéliser il faut absolument que soient connues les contraintes qu'exercent les facteurs du milieu (lumière , température , concentration en nutriments limitants ,etc.) sur les différents flux que l'on a cherché à identifier et quantifier (voir §§ précédents) .

Celles-ci s'appliquent plus précisément aux constantes cinétiques des réactions biochimiques qui déterminent ces flux.

La recherche en ce domaine consiste à établir les lois selon lesquelles les constantes cinétiques répondent aux variables de commande. Il est évident que les compartiments biologiques auxquels on s'adresse doivent être homogènement fonctionnels. C'est la raison pour laquelle le fractionnement en nanno- et microplancton est poursuivi.

C'est dans le domaine de la relation production particulaire-lumière que cette recherche est la plus avancée actuellement.

Aujourd'hui , et avant que l'étude précitée ne soit complétée (la plupart des acquis n'étaient que des premières indications), s'ajoutent une série de nouvelles variables (excrétion, vitesses de synthèse de métabolites divers , respiration, etc.) qu'il s'agira d'aborder de la même manière.

De plus, l'étude du rôle de la lumière ne doit pas faire oublier celui des autres facteurs (nutriments notamment).

4.1 Influence de la lumière

4.1.1. *Influence de la lumière sur la production particulaire*

La relation photosynthèse-lumière et les modèles qui la décrivent le plus justement ont déjà été étudiés lors du programme CIPS (Mommaerts, in Projet Mer , Rapp.final,8) en ce qui concerne la Mer du Nord.

Dans le cadre du projet "Matières organiques" il convenait de préciser les valeurs des paramètres utiles de cette relation ,pour les deux biotopes supplémentaires.

Les rapports OM/1978 09,15 et 18 fournissent les données brutes permettant de reconstituer une série de courbes photosynthèse-lumière (fig.8) .

Le tableau XIV donne les valeurs probables des paramètres de saturation I'_K et p_{opt} (voir fig. 8) déduits de ces courbes et permettant la modélisation de la production intégrée sur la profondeur (voir § II.3.6.).

Du point de vue de la recherche sur les régulations , il est particulièrement utile de suivre les variations des paramètres k_{opt} ($=p_{opt}/\text{chlor.a}$) et α ($=k_{opt}/I'_K$) qui ont des significations physiologiques précises (tabl.XV).

	Avril 1978		Mai 1978		Juillet 1977 1978		Octobre 1977	
Station	I'_K	p_{opt}	I'_K	p_{opt}	I'_K	p_{opt}	I'_K	p_{opt}
CALAIS	4-6.5	2.5-6	-	-	30 20	4.5 2.5	10	4.5
OSTENDE	4-6.5 7-9	9-13 20-30	≤ 5	16	≤ 15	13	7	16
HANSWEERT	-	-	3	7	-	-	10	18

Tableau XIV. Valeurs d' I'_K (joules/cm²h) et de p_{opt} (mg C/m³h)

La variation saisonnière d' I'_K , déjà constatée en 1971-1975 pour la Mer du Nord semble confirmée. D'autre part, il ne semble pas y avoir de différences marquées entre les trois biotopes.

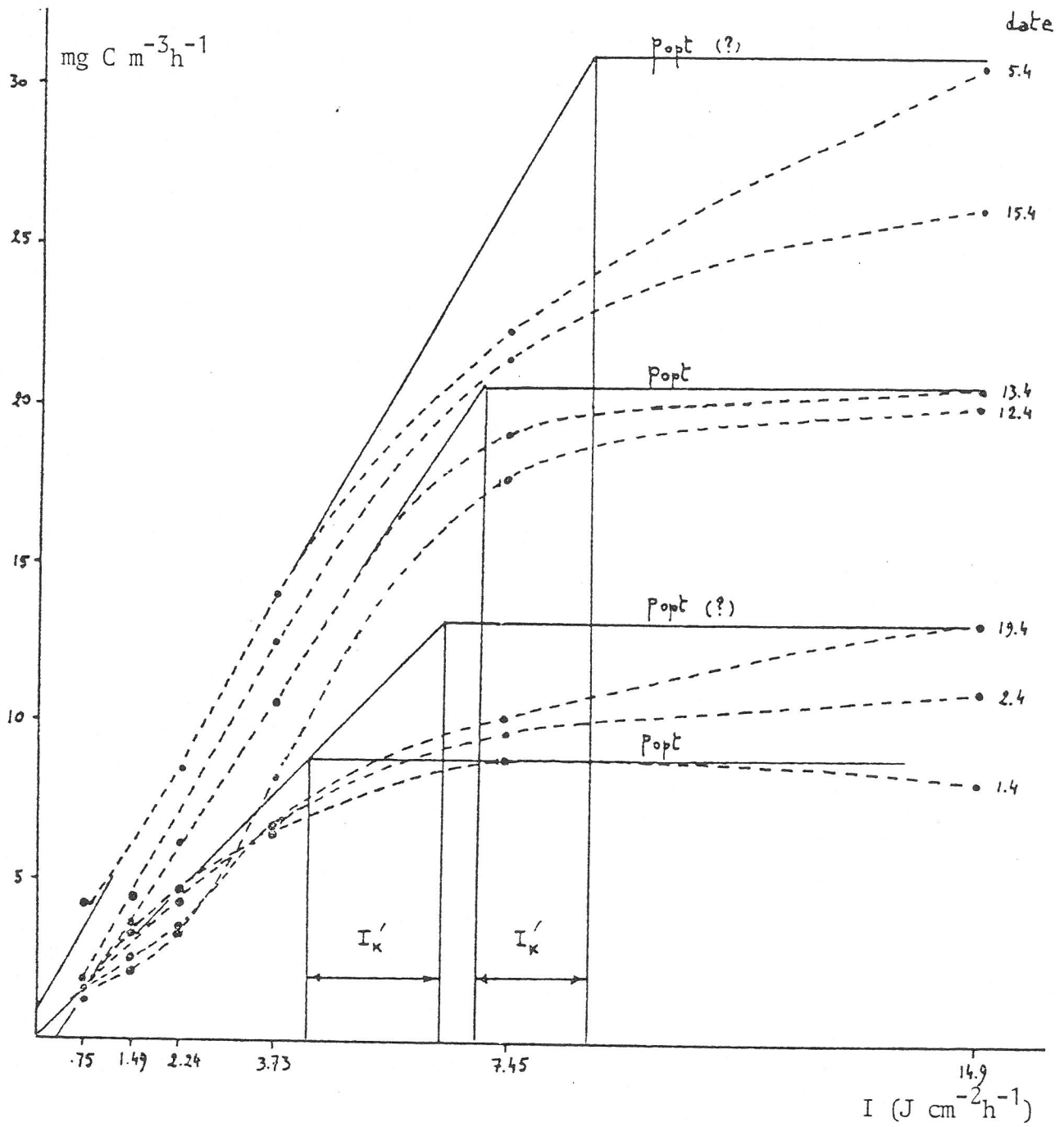


Fig. 8. Courbes production particulaire-lumière observées à Ostende, avril 1978

	Avril 1978		Mai 1978		Juillet 1977 1978		Octobre 1977	
Station	K_{opt}	α	K_{opt}	α	K_{opt}	α	K_{opt}	α
CALAIS	2.0-3.0	0.4-0.5	-	-	13.2 4.6	0.4 0.2	5.8-7.5	0.6-0.7
OSTENDE	1.4-4.4 1.0-2.7	0.2-0.6 0.2-0.7	2.7	≥ 0.5	6.9	≥ 0.4	4.0	0.6
HANSWEERT	-	-	5.2	1.7	-	-	4.0-9.5	0.4-0.9

Tableau XV : valeurs de K_{opt} (h^{-1}) et α ($h^{-1}I^{-1}$)

Les valeurs de k_{opt} et α concernent respectivement le rendement photosynthétique maximal de la chlorophylle (un paramètre pouvant notamment dépendre de la concentration en nutriments limitants et de la température) et la dépendance de la lumière en situation non saturante (un paramètre pouvant aussi être lié à l'espèce).

Pour l'instant, aucune tendance — régionale ou saisonnière — vraiment claire ne se dégage de ces valeurs. Il se peut cependant qu'à l'avenir, des données supplémentaires viennent confirmer l'impression que les valeurs de k_{opt} sont plus faibles en avril (effet de bloom) et que les valeurs de α sont plus élevées à Hansweert (adaptation à un environnement faiblement éclairé).

4.1.2. Influence de la lumière sur la production dissoute

En première analyse, la production dissoute paraît représenter une fraction relativement constante de la production totale (voir les nombreuses données du rapport OM/1978 15), c-à-d que sa relation à la lumière obéit approximativement à la même loi que la production particulaire et peut donc être simulée par le même modèle (ex: Vollenweider).

Cette conclusion n'a pu être obtenue qu'en soustrayant les chiffres d'incubation à l'obscurité pour chacune des fractions (= tentative d'élimination de la composante "fixation anaplérotique+background" pour la fraction particulaire et de la composante "background de contamination organique d'ampoule" pour la fraction dissoute). Comme les bruits de fond exacts n'étaient pas connus, les courbes de % d'excrétion montrent cependant encore une très grande variabilité aux plus faibles éclaircissements (fig. 9). La tendance moyenne (fig. 10) va dans le sens d'une légère diminution du % excrété. Pour être tout à fait correct, il convient donc de prévoir un algorithme particulier pour le calcul de l'excrétion in situ :

soit $p_I = p_{opt} \cdot f_1(I)$ l'algorithme utilisé pour la production primaire particulaire (par ex. le modèle de Vollenweider)

où : p_I = production particulaire à la lumière I

p_{opt} = " " " " optimale

$f_1(I)$ = fonction de la lumière

et $\epsilon_I = \epsilon_{opt} \cdot f_2(I)$ la relation "fraction de la production totale excrétée - lumière"

où : ϵ_I = fraction du total excrétée à la lumière I

ϵ_{opt} = " " " " optimale

$f_2(I)$ = fonction de la lumière

on définit l'algorithme suivant pour l'excrétion :

$$e_I = \frac{\epsilon_{opt} \cdot f_2(I)}{1 - \epsilon_{opt} \cdot f_2(I)} \cdot p_{opt} \cdot f_1(I)$$

Avec les données actuelles on a $f_2(I) = 0.0133 I + 0.8$

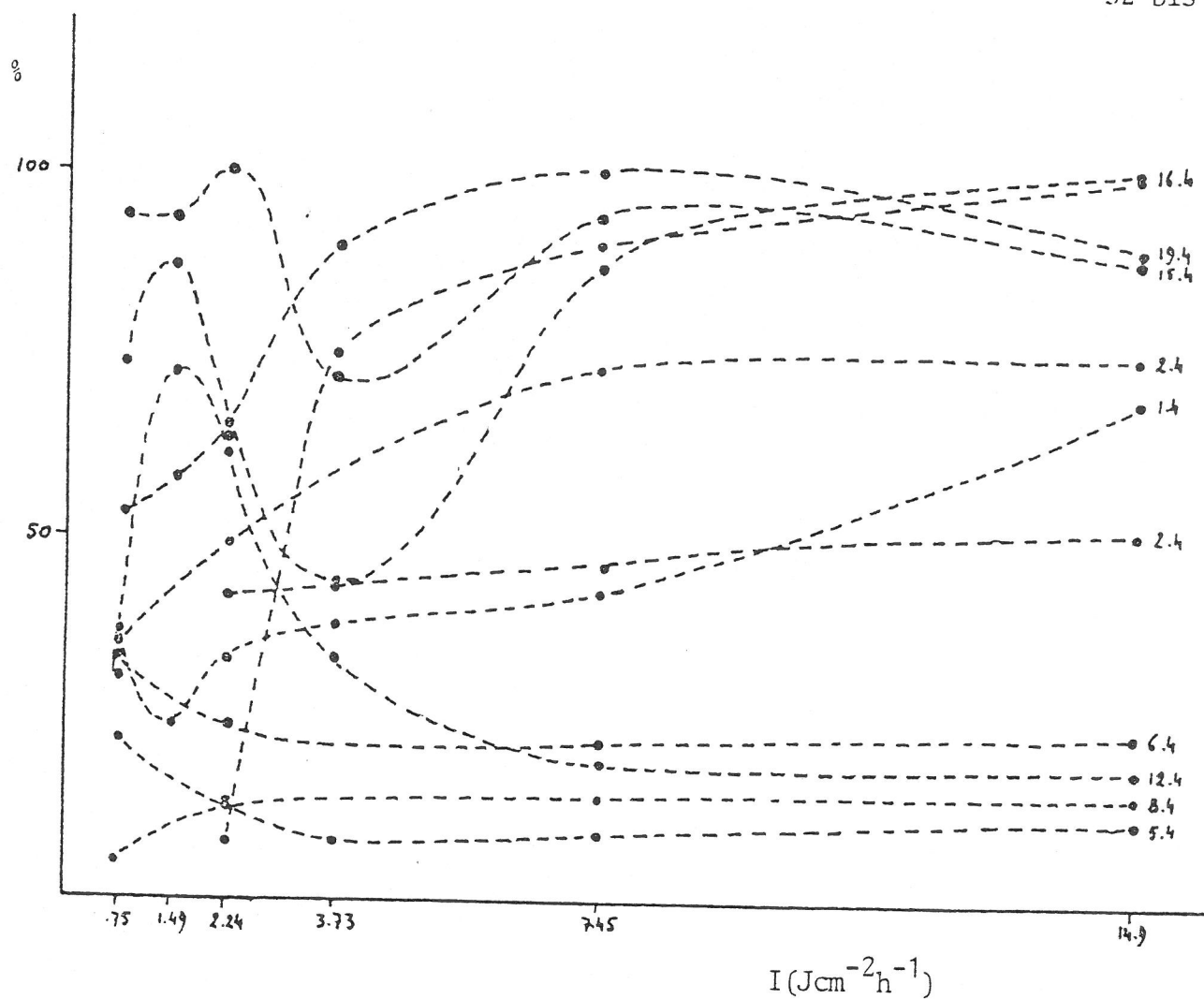


Fig. 9. Courbes production dissoute - lumière (en % de la production totale) observées à Ostende, avril 1978.

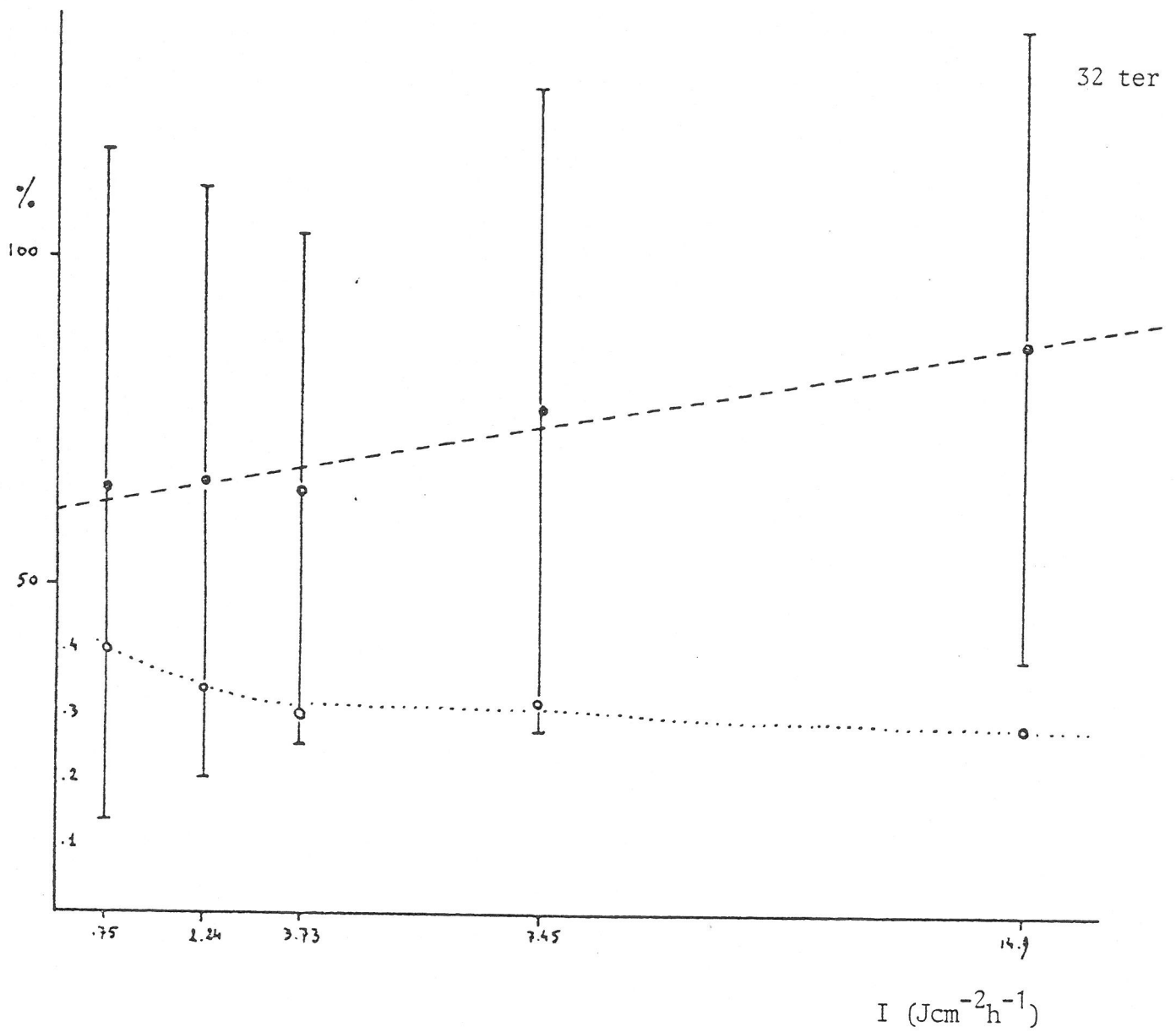


Fig. 10. Tendence moyenne du % d'excrétion (par rapport au % maximum, pris comme index 100) en fonction de l'intensité lumineuse
 cercles noirs : moyenne $\pm$ déviation standard
 cercles blancs : coefficient de variation ($\bar{m}/\sigma$)

Excrétion à l'obscurité

Se basant sur les résultats de quelques expériences préliminaires avec prémarquage , le même rapport (OM/1978 15) indique aussi que l'activité d'excrétion pourrait se prolonger pendant quelques heures après que les cellules phytoplanctoniques aient été plongées dans l'obscurité . Ce phénomène a probablement son importance du point de vue écologique puisque la turbulence de l'eau amène les organismes phytoplanctoniques à passer rapidement par des zones d'éclairement variable.

4.1.3. Autres processus influencés par la lumière

La spéciation de la synthèse des métabolites , la photorespiration , la respiration sont également influencées par la lumière . Ces aspects n'ont cependant pas encore fait l'objet de recherches particulières dans le cadre du programme "Matières organiques".

4.2. Influence de la concentration en nutriment limitant

Remarque : un rapport particulier traite des quelques données actuellement disponibles en ce qui concerne les problèmes de nutriments.

4.2.1. Régulation de la photosynthèse et de l'uptake de nutriments

Deux aspects ont été plus concrètement abordés dans la période 1977-1978 :

1. Stimulation de la production à la suite d'enrichissements en NO_3^-

Une réaction positive implique que l'élément testé est en concentration limitante dans le milieu . Une telle stimulation de la production particulière a été nettement observée à Ostende et à Hansweert en octobre 1977. Par contre , il n'y a pas eu d'effet significatif lors des croisières d'avril et mai 1978 (rapport OM/1978:18). La conclusion est très incertaine , d'autant plus que le critère retenu n'est pas le meilleur : en effet, c'est dans une stimulation de l'uptake plutôt que de la photosynthèse qu'il faut rechercher une réponse à la question d'une détermination de l'élément

limitant . Une recherche sur les autres éléments potentiellement limitants fait également défaut .

2. Recherche de la nitrate-réductase

On sait par la littérature que la synthèse de la nitrate-réductase (permettant l'utilisation de NO_3^- par le phytoplancton) est inhibée par le NH_4^+ à partir d'un certain seuil , placé fort bas ($\geq 1 \text{ M/l}$).

Comme la concentration en NH_4^+ est généralement plus élevée dans nos eaux , la question de la disponibilité de NO_3^- se posait fortement . Cette question a été résolue en partie (rapport OM/1978:21) puisqu'on observe de la nitrate-réductase presque chaque fois qu'il y a du phytoplancton . Il faut cependant souligner que cela n'implique pas automatiquement que le NO_3^- soit effectivement utilisé par le phytoplancton .

4.2.2. Nature des produits de synthèse

La nature des produits métabolisés par les cellules phytoplanctoniques dépend de différents facteurs liés à l'espèce (position taxonomique, état physiologique) et au milieu (nutrients , lumière , salinité , température). Quoiqu'encore peu nombreux , les résultats acquis sembleraient indiquer que chaque milieu supporte la croissance d'une communauté phytoplanctonique propre , caractérisée par une composition biochimique propre , indépendamment de la diversité des espèces et peut-être de la taille des organismes.

Il semblerait d'autre part que la richesse plus ou moins grande d'un milieu en azote minéral dissous influence les proportions de protéines et d'hydrates de carbone nouvellement synthétisés :

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

III. Conclusions

III.1. Résultats et problèmes en suspens

Les diverses recherches sur le phytoplancton qui — pour obéir à une certaine logique — ont été présentées dans un cadre d'approche systématique, ont apporté des débuts de réponses aux deux problèmes principaux qui motivaient le groupe "Matières Organiques":

1.1. Un problème général

La mise en évidence et l'étude de variantes significativement différentes des cycles biogéochimiques est-elle susceptible de faire progresser notre compréhension des mécanismes qui régissent le fonctionnement des écosystèmes marins de nos régions ?

Il a en tout cas été établi que des différences nettes existent entre Calais, Ostende et Hansweert en ce qui concerne la composition biochimique des organismes phytoplanctoniques et des détritiques ainsi que dans les "patterns" de biosynthèse. Ceci pourrait avoir une influence au niveau des consommateurs (bactéries, surtout vis-à-vis de la matière dissoute, et zooplancton, surtout vis-à-vis de la matière particulaire).

Par contre, on n'a pas pu mettre en évidence des différences significatives en ce qui concerne les taux de production, d'excrétion, la répartition entre nanno- et microplancton, les paramètres de la relation photosynthèse-lumière. Ceci n'est cependant pas un résultat définitif car, pour beaucoup de ces aspects, le nombre de mesures était nettement insuffisant à moins que ce ne soient les conditions du milieu qui étaient exceptionnelles (climat défavorable, par ex.).

Enfin, une série d'aspects importants n'ont pas été abordés pendant cette période : ex.-nature des populations (à mettre en rapport avec grazing)

- régulation de l'uptake par les nutriments limitants
- importance de la mortalité naturelle du phytoplancton
- spéciation de la production dissoute
- etc.

1.2. Un problème particulier

Sachant que les chiffres de consommation hétérotrophe globale étaient incompatibles avec les valeurs avancées jusqu'ici pour la production primaire brute, était-il possible que le phytoplancton soit néanmoins une source importante de petits métabolites pouvant servir de substrats aux bactéries hétérotrophes ? Au cas où l'excrétion phytoplanctonique ne pouvait expliquer cet apport de matières organiques, y avait-il d'autres explications aux valeurs élevées de respiration globale ?

Des progrès importants ont été accomplis en ce qui concerne la quantification correcte de l'excrétion phytoplanctonique (mise au point d'une approche cinétique), de la forme de régulation par la lumière et du calcul de l'uptake hétérotrophe éventuel à partir des écarts aux taux initial.

On a montré que, quoique non négligeable, la production dissoute n'était généralement pas supérieure à la production particulaire.

D'autre part, l'uptake hétérotrophe sur la production dissoute est en général assez faible.

Il semble donc qu'il faille trouver d'autres raisons aux chiffres élevés de respiration globale à l'obscurité. La possibilité d'une respiration ou d'une photorespiration phytoplanctonique plus élevée que prévues a été discutée. Il y a cependant un ensemble de faits contradictoires qui continuent à obscurcir ce problème : selon des données récentes de la littérature, la respiration phytoplanctonique serait supprimée à la lumière et de toute façon très faible à l'obscurité. D'autre part, des mesures de fixation de CO_2 marqué pouvant être attribuée aux "bactéries libres" (fraction comprise entre 0.2 et 1 micron) impliquent des respirations très importantes.

III.2. Thèmes de recherches futures

Les questions soulevées au § précédent constituent évidemment des sujets de recherche prioritaires :

- la respiration et/ou la photorespiration du phytoplancton peuvent-elles contribuer de manière importante à la respiration globale ? Comment se fait la régulation de ces activités ? Des recherches indicatives peuvent se faire à l'aide de

cultures axéniques . D'autre part , il existe des méthodes permettant de mesurer le taux de photorespiration .

- on cherchera à préciser les interactions suivantes :

-phytoplancton-zooplancton : par des mesures de spéciation de la matière organique particulaire , couplées à des dosages d'enzymes digestifs du zooplancton

-phytoplancton-bactéries : par des mesures de spéciation de la production dissoute

- en ce qui concerne des paramètres déjà connus , une série de points restent à préciser en ce qui concerne les régulations (effets des nutriments sur la production primaire et l'uptake , sur l'excrétion , sur la spéciation des métabolites excrétés ; excrétion à l'obscurité et aux fortes lumières).
- d'autres paramètres n'ont jamais été étudiés : il en va ainsi de la mortalité "naturelle" (non due au grazing) dont la quantification est importante pour la modélisation du système et qui peut représenter un facteur important dans le déterminisme de la fourchette phyto-zoo ou phyto-bactéries.

Certaines expériences sont prévues pour tenter d'évaluer l'activité exo-enzymatique déployée sur du matériel cellulaire mort .

Références bibliographiques

- Beyers, R.J., 1965 . The pattern of photosynthesis and respiration in laboratory microecosystems . in C.R.Goldman (ed.) Primary productivity in aquatic environments . Mem. Ist.Ital.Idrobiol., 18 suppl. Univ. of California Press, Berkeley. , pp. 61-74.
- Cheng, K.H. and Colman, B., 1974. Measurements of photorespiration in some microscopic algae . Planta (Berl.) , 115, 207-212.
- Joiris, C., 1977. On the role of heterotrophic bacteria in marine ecosystems : some problems . Helgoländer wiss.Meeresunters., 30, 611-621.
- Odum, H.T., Beyers, R.J. and N.E.Armstrong, 1963. Consequences of small storage capacity in nanoplankton pertinent to measurements of primary production in tropical waters . J. of Mar. Res., p.191
- Radmer, R.J. and B.Kok, 1976. Photoreduction of O_2 primes and replaces CO_2 assimilation . Plant Physiol., 58, 336-340.

Liste des rapports techniques utilisés.

- TECH. REP. OM/1978 03 : C. Lancelot-Van Beveren : Mesure de la production photosynthétique particulaire et dissoute.
- TECH. REP. OM/1978 05 : C. Lancelot-Van Beveren : Croisières "matières organiques": protéines, hydrates de carbone, lipides particuliers et amines primaires dissoutes.
- TECH. REP. OM/1978 09 : A. Bertels en J. Nijs : Kruisvaarten organische stoffen, juli en oktober 1977. Primaire produktie.
- TECH. REP. OM/1978 13 : J.P. Mommaerts : Note sur le problème de cohérence entre mesures d'activités autotrophes et hétérotrophes dans les écosystèmes marins.
- TECH. REP. OM/1978 15 : A. Bertels : Kruisvaart organische materie : April 1978. Excretie en primaire produktie bepaling in de Noordzee.
- TECH. REP. OM/1978 17 : J. Nijs : Chlorofyl- en pheophytine waarden, organische stoffen mei en juli 1978.
- TECH. REP. OM/1978 18 : J. Nijs en A. Berthels : Bruto resultaten van de particuliere en opgeloste primaire produktie voor Oostende-Calais-Hansweert van 1978.
- TECH. REP. OM/1978 21 : M. Somville : Dosage de la nitrate réductase en Mer du Nord et dans la partie aval de l'estuaire de l'Escaut.
- TECH. REP. OM/1978 22 : C. Lancelot-Van Beveren : Spéciation biochimique de la production phytoplanctonique particulaire.
- TECH. REP. OM/1978 23 : C. Nihoul : Zuurstof verbruik door fotosynthetische organismen in het licht - Fotorespiratie.
- TECH. REP. SURVEY/1978 03 : J. Nijs en A. Bertels : Dosage van chlorofyl- en pheophytinepigmenten in de Belgische kustwateren tijdens het jaar 1977.
- TECH. REP. SURVEY/1978 07 : J.P. Mommaerts et G. De Cadet : Seizoen variatie en ruimtelijke verspreiding van de nutriënten in de Zuidelijke Noordzee (1978). Implicaties betreffende verbruik en regeneratie.
- Rapport A.R.C. 1977 : C. Lancelot-Van Beveren : Variations saisonnières des principaux métabolites du phytoplancton (protéines, hydrates de carbone, lipides) dans la zone côtière de la Baie Sud de la Mer du Nord.
- Programme National R & D, Projet Mer, Vol. 8 (Ed. Nihoul & Polk): Chaînes trophiques et cycles des nutriments

ACTIONS CONCERTÉES EN OcéANOGRAPHIE

RAPPORT D'ACTIVITÉ

1978

ANNEXE N° 10

Synthèse des recherches en microbiologie

GROUPE " MATIERES ORGANIQUES "

Synthèse des recherches en microbiologie

(période 1977-1978)

55479

par Gilles BILLEN (ULB)

Claude JOIRIS (VUB)

PLAN .

1. Introduction
2. Stocks de matière organique
 - 2.1. Dosage direct des substrats directement utilisables
 - 2.2. Dosage de la matière organique potentiellement utilisable (BOD_{5j})
 - 2.3. Dosage de la matière organique totale (TOC)
 - 2.4. Dosage de la matière organique particulaire
 - 2.5. Discussion générale
3. Vitesse d'utilisation
 - 3.1. Utilisation des substrats directement utilisables
 - 3.2. Vitesse initiale de consommation d'oxygène
 - 3.3. Discussion générale
4. Régulation de l'activité hétérotrophe
 - 4.1. Constance des stocks de substrats directement utilisables
 - 4.2. Production de substrats directement utilisables.

1. Introduction

Dans le cadre de l'étude synécologique du fonctionnement des milieux marins, l'objet principal des recherches microbiologiques consiste à estimer l'intensité, et à comprendre le déterminisme de l'activité hétérotrophe.

La notion d'activité hétérotrophe, même limitée aux microorganismes peut avoir 2 acceptations :

- l'activité hétérotrophe au sens large (respiration totale) recouvre toute utilisation de matière organique à des fins énergétiques. Elle comprend donc la respiration par le phytoplancton de matières organiques intracellulaires et celle, quantitativement beaucoup plus faible, du zooplancton
- l'activité hétérotrophe au sens strict ne comprend quant à elle que l'utilisation de substrats organiques exogènes, prélevés directement dans le milieu.

Jusque tout récemment, les méthodes directes de mesure de l'activité hétérotrophe utilisées dans ce programme (mesure de la vitesse initiale de consommation d'oxygène, mesure de l'incorporation anaplérotique de bicarbonate) ne donnaient accès qu'à l'activité hétérotrophe au sens large ("respiration planctonique totale").

La démarche du sous-groupe "Microbiologie" a été de rendre opérationnelle la définition de l'activité hétérotrophe au sens strict, grâce

- à l'analyse spécifique de la matière organique présente dans le milieu marin : détermination des concentrations naturelles des principaux substrats.
- à la mesure spécifique de l'utilisation hétérotrophe de certaines molécules organiques représentatives.

L'avantage de cette approche, outre qu'elle permet d'accéder à la mesure de l'activité hétérotrophe au sens strict, écologiquement plus significative, est de permettre ensuite l'accès aux mécanismes de son déterminisme.

2. Stocks de matière organique.

2.1. Dosage direct des substrats directement utilisables.

2.1.1. Concept de matière organique directement utilisable.

Parmi l'énorme diversité des substances organiques constituant de la matière organique des eaux naturelles, un petit nombre seulement peut être directement prélevées et utilisées par les microorganismes.

La pénétration d'une molécule organique à l'intérieur de la cellule des bactéries est en effet un phénomène actif, catalysé par un enzyme spécifique appelé perméase. Ne peuvent être substrats de ces perméases que des molécules de petit poids moléculaire, monomères ou di- et trimères, comme les sucres, les acides aminés (éventuellement di- ou tri peptides), les acides organiques.

Ce n'est que par l'intervention d'exoenzymes que des particules ou des molécules organiques de haut poids moléculaire peuvent in fine être utilisées par les bactéries.

Le pool de matière organique directement utilisable est donc constitué par l'ensemble des molécules organiques de petit poids moléculaire.

2.1.2. Mesure des concentrations en petits substrats organiques.

2.1.2.1. Méthodes.

Acides Aminés : chromatographie d'échange ionique sous pression (Amino acid Analyser Beckman, model 120) après concentration et désalement sur Chelex 100.

(G.Gillain : rapport d'activité ARC 1977. Lab. Océanologie ULg).

Glycollate : colorimétrie après concentration sur alumine (Shah et Wright, 1974).

Glucose, Acetate, Lactate : Dosage enzymatique direct avec détection fluorimétrique de NAD(P)H produit.

(G. Billen & J. Putman, Tech. Rep. OM 1978 04).

2.1.2.2. Résultats

Les concentrations mesurées tout au long d'un cycle annuel aux trois stations Hansweert, Ostende et Calais sont données dans les tableaux Ia (3 acides aminés représentatifs, glucose, glycollate, acétate et lactate) et Ib (tous les acides aminés).

2.1.2.3. Discussion

Ces résultats ne montrent pas de variations importantes, ni saisonnières, ni géographiques. L'interprétation de ce fait, tout à fait remarquable sera discutée plus loin.

Remarquons dès à présent que la gamme de concentration trouvée ici concorde tout à fait avec celle des dosages similaires publiés dans la littérature, qu'il s'agisse de mesures effectuées dans des eaux douces, des eaux saumâtres ou des eaux marines, côtières ou océaniques (voir tableau II).

Tableau Ia : Concentration des substrats organiques dans l'eau
des trois stations étudiées.
(en $\mu\text{mole/l}$).

Hansweert

	Ala	Asp.	Lys.	Glyc.	Gluc.	Acet.	Lact.
19.07.77	0.084	0.033	0.021	2.0	-	0.2	0.2
21.10.77	0.042	0.013	0.014	-	0.06	0.2	0.2
07.04.78	0.044	0.024	0.010	4.5	0.08	1.5	-
21.04.78	0.020	0.015	0.010	4.5	0.08	3.3	-
19.05.78	0.054	0.010	0.010		0.05	0.2	-

Ostende

18.07.77	0.050	0.019	0.036	1.8	-	-	1.6
18.10.77	0.021	0.031	0.030	-	-	0.2	4.9
05.04.78	0.015	0.028	0.010	3.0	0.02	2.4	
19.04.78	0.010	0.020	0.010	3.1	0.02	1.3	
16.05.78 12h	0.049	0.019	0.015		0.05	0.2	0.2
24h							0.02
11.07.78					0.04		

Calais

26.07.77	0.141	0.065	0.028	0.9			
19.10.77	0.176	0.100	0.034	-	0.04	4.0	
04.04.78	0.036	0.020	0.031	2.3	0.01	0.2	
18.04.78 12h	0.036	0.010	0.010	2.3	0.005	0.2	
24h	0.010	0.015	0.020		0.005		
17.05.78	0.015	0.012	0.020		0.01	0.2	1.6
12.07.78							0.6

Mesures effectuées par :

Ala, Asp, Lys : G. Gillain, ULg

Glycollate, Acet., Lact. : G. Billen, ULB

Glucose : J. Wijnant, VUB

Tableau Ib : Dosage des acides aminés libres (en µmoles/l)

	Asp	Thr	Ser	GluNH ₂	Pro	Gly	Ala	Val	Cys	Met	Isoleu	Lev	Tyr	Phe	Lys	His	TOTAL
<u>Hansweert</u>																	
19.07.77	.033	.040	.240	.036	.052	.243	.084	.030	<.010	<.010	.015	.018	.022	.014	.021	.013	.881
21.10.77	.013	.079	.080	.030	.034	.133	.042	.030	<.010	<.010	.020	.022	.014	.010	.014	.015	.536
07.04.78	.024	.012	.124	<.010	<.010	.096	.044	.025	.013	<.010	.015	.018	<.010	<.010	.010	.010	.420
21.04.78	.015	.050	.070	.022	.014	.062	.020	.015	.010	.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	.300
19.05.78	.010	.020	.017	.010	.010	.052	.054	.010	.010	.010	.010	.012	.015	.015	.010	.010	.275
<u>Ostende</u>																	
18.07.77	.019	.020	.140	.060	.21	.060	.050	.020	<.010	<.010	.018	.012	.020	.020	.036	.029	.545
18.10.77	.031	.030	.123	.079	.029	.046	.021	.028	<.010	<.010	.020	.018	.020	.025	.030	.021	.540
05.04.78	.028	.015	.030	.010	.016	.160	.015	<.010	.010	<.010	<.010	.010	.010	.010	.010	.010	.330
19.04.78	.020	.016	.030	<.010	<.010	.160	.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	.230
16.05.78																	
12h	.019	.016	.090	.154	.041	.383	.049	.019	<.010	<.010	.010	.010	<.010	<.010	.015	.076	.922
<u>Calais</u>																	
26.07.77	.065	.066	.392	.030	.047	.350	.141	.048	<.010	<.010	.028	.034	.023	.014	.028	.028	1.314
19.10.77	.100	.084	.508	.085	.186	.426	.176	.024	<.010	<.010	.034	.044	.052	.040	.034	.030	1.843
04.04.78	.020	.052	.040	.030	<.010	.100	.036	<.010	<.010	<.010	.020	.024	.018	.015	.031	.032	.450
18.04.78																	
12h	.010	.025	.010	<.010	<.010	.030	.036	<.010	<.010	<.010	.025	.010	.012	.016	.010	.016	.300
23h	.015	.025	.010	<.010	<.010	.412	.010	<.010	<.010	<.010	.025	.020	.015	.010	.020	.024	.586
17.05.78																	
12h	.012	.010	.032	.010	.010	.213	.015	.010	<.010	<.010	.010	.010	.010	.010	.020	.010	.402
24h	.010	.010	.020	.010	.015	.015	.012	.010	<.010	<.010	.010	.010	.020	.013	.015	.013	.203

Tableau II : Revue de la littérature sur les dosages de petits substrats organiques.

Substrat	Milieu	concentration (uM)		Auteurs
<u>Acides aminés</u>		ac. am. indiv.	ac.am. totaux	
	Pacifique	0 - 0.38	0.16 - 1.24	Degens et al. 1964
	Mer Noire	0 - 0.09	0.02 - 0.37	Starikova & al., 196
	Mer d'Irlande	0 - 0.08	0.04 - 0.31	Riley & Segar, 1970
	German Bight	0 - 0.15	0.08 - 0.70	Bohling, 1970
	Atlantique	0 - 0.16	0.06 - 0.47	Pocklington, 1971
	Manche	0 - 0.08	0.10 - 0.80	Andrews & Williams,7
	York estuary	0.005-0.17	0.38	Hobbie et al., 1968
	Baie de Tokyo	1.5		Seki et al., 1975
	Pacifique	0 - 0.03	0.02 - 0.08	Williams et al, 1976
	Mer d'Irlande	0.02-0.16	0.52	Chau & Riley, 1966
	Mer Baltique		0.13 - 0.39	Dawson & Gocke, 1978
<u>Glucose</u>	Atlantique	0 - 0.33		Vaccaro & Jannasch,6
	Atlantique	0 - 1.1		Vaccaro et al., 1968
	Pacifique	0.03 - 0.08		Degens, 1964
	Fjord Scandinave	0.05 - 0.25		Josefson, 1970
	Manche	0.002- 0.03		Andrews & Williams,7
	Baie de Tokyo	0.06 - 0.64		Seki et al., 1975
<u>Acide Glycollique</u>	Baie d'Ipswich	0 - 0.5		Wright & Shah, 1975
	Estuaire de l'Essex	0.26		Wright & Shah, 1975
	Estuaire de l'Essex	1.2		Anitia et al., 1963
	Mer d'Irlande	0.7		Al-Hassan, 1975
	Baie d'Ipswich	1.0		Shah & Wright, 1974
<u>Urée</u>	Atlantique	0 - 0.5		Mc Carthy, 1970
	Atlantique	0.25 - 2.5		Remsen, 1971
	Atlantique	0.02 - 0.3		Newell et al, 1967
	Baie de Mikawa	0.5 - 3		Mitamura et al., 197
<u>Acetate</u>	Pacifique	0.1 - 40		Koyana et al., 1959
	lagune d'aération	1.7 - 12		Stanley & Staley, 77
<u>Formate</u>	Pacifique	1 - 20		Koyana et al., 1959
<u>Lactate</u>	Pacifique	0.2 - 1.0		--

2.1.3. Estimation du stock total de substrats directement utilisables

A partir des dosages présentés ci-dessus, nous tentons, dans le tableau III, d'évaluer grossièrement l'ordre de grandeur du stock total des substrats directement utilisables, en $\mu\text{grC/l}$.

2.1.3.1. Amino - acides :

Les dosages présentés au Tableau Ib couvrent l'ensemble des acides aminés libres. Les résultats, convertis en $\mu\text{grC/l}$ en sont repris au Tableau III.

Les polypeptides, n'étant pas retenus sur la colonne de Chelex 100 lors de l'étape de concentration, échappent à ce dosage.

A quelques occasions, nous disposons de dosages des fonctions amines primaires libres (méthode à la fluorescamine). Outre les acides minés libres, ce dosage couvre l'extrémité amine libre des polypeptides et les éventuelles amines primaires non acides. La comparaison avec les dosages d'acides aminés est donnée dans le tableau ci-dessous:

Station		$\mu\text{M/l}$ de $\text{f}^{\text{on}}-\text{NH}_2$ dans les ac.aminés libres (dos.ac.aminés libres)	$\mu\text{M/l}$ de $\text{f}^{\text{er}}-\text{NH}_2$ libres (dos. à la fluorescamine)
Hansweert	19.07.77	.938	2.2
	21.10.77	.580	1.0
Ostende	18.07.77	.641	1.1.
	18.10.77	.649	3.81
Calais	26.07.77	1.372	3.4
	19.10.77	1.962	1.93

Il est probable que les protéines dissoutes suffisent à expliquer les valeurs environ 2x plus élevées trouvées par le dosage à la fluorescamine.

2.1.3.2. Glucides.

Nos mesures directes ne couvrent que le glucose. Dans l'avenir, il sera possible, par le même type de méthode enzymatique, et donc sans un accroissement exagéré de l'effort analytique, d'étendre nos dosages à 2 autres monosaccharides, le fructose et le galactose et à un disaccharide, le lactose.

En attendant, force nous est d'estimer le stock total de glucides de faible poids moléculaire à partir des concentrations mesurées de glucose et de quelques mesures citées dans la littérature de l'ensemble des glucides.

Des mesures concordantes effectuées par Josephson (1970) dans un fjord scandinave et par Degens et al (1964) est possible de tirer une répartition moyenne des principaux monosaccharides dans l'eau de mer (en % du total des monosaccharides) :

	Gullmarfjord (Josephson 1970)				Pacifique (Degens et al, 1964)			Black sea (Mopper cité par Dawson)
	35 m	2 m	35 m	2 m	0 m	2000 m	3000 m	
Glucose (C ₆)	20%	30%	25%	30%	40%	43%	43%	50%
Galactose "	25	20	7	21	40	10	8	
Fructose "	2	4	3	9	-	-	-	41%
Nannose "	17	22	7	19	20	38	49	
Arabinose (C ₅)	10	9	10	7	-	-	--	
Rhamnose "	17	13	8	13	-	5	-	

D'après ces valeurs, le glucose représenterait en moyenne 30% du total des monosaccharides.

A notre connaissance, il n'existe pas de mesure de disaccharides dans l'eau de mer. Il est pourtant certain que les disaccharides sont parmi les substrats directement utilisables pour les microorganismes.

Le tableau III ne reprend donc que le total des monosaccharides obtenu en multipliant par 3.3 la concentration mesurée en glucose.

2.1.3.3. Produits d'excrétion phytoplanctonique.

Le glycollate doit être considéré comme l'un des produits les plus typiques de l'excrétion phytoplanctonique.

De quelques études existant dans la littérature sur la spéciation de l'excrétion phytoplanctonique en conditions naturelles il apparait que le glycollate constitue une part significative du carbone total excrété.

Authors	Environment	Part du glycollate dans le carbone organique excrété
Al-Hassan & Coughlan (1977)	Coastal sea water	35%
Watt (1966)	Fresh water	13 - 92%

Hellebust (1974) a revu récemment la littérature concernant les produits extracellulaires libérés par les algues. En dehors du glycollate et de quelques autres acides organiques, il semble que les produits d'excrétions isolés jusqu'à présent soient le plus fréquemment macromoléculaires :

Les carbohydrates excrétés sont le plus souvent des polysaccharides, les monosaccharides n'étant généralement trouvés qu'en faible quantité dans les produits d'excrétion (à quelques exceptions près, parmi lesquelles comptent les algues symbiotiques des lichens)

les protides ne constituent le plus souvent qu'une faible fraction du matériel extracellulaire des algues vertes et brunes. Les algues bleues quant à elles excrètent de grandes quantités de protéines, mais les acides aminés libres ne constituent jamais qu'une part très réduite de l'excrétion.

Les autres produits d'excrétions connus -lipides, complexes polyphénoliques, ...etc- ne sont probablement pas directement utilisables pour l'activité hétérotrophe.

Provisoirement, nous assimilerons donc le pool directement utilisable des produits d'excrétion phytoplanctonique à la concentration en glycollate.

2.1.3.4. Produits de fermentation.

L'acétate et le lactate, pour lesquels nous disposons de mesures directes, ne figurent pas parmi les composés excrétés par le phytoplancton (Fogg, 1965), mais constituent plutôt des produits de fermentation.

La présence de produits de fermentation en concentration significative (et surtout, voir plus loin, leur turnover relativement rapide) dans des eaux aérées peut sembler paradoxale. Cela indique l'existence de métabolismes fermentatifs en milieu riche en oxygène. En fait, les seuls organismes fermentatifs à n'être pas inhibés par l'oxygène, ni induit à passer à un métabolisme respiratoire en aérobiose sont les bactéries lactiques ⁽¹⁾. Il est donc probable que les principaux produits de fermentation en eau de mer soient constitués par les produits de fermentation lactiques : acides lactique et acétique, éthanol.

Nous ne disposons jusqu'ici que de quelques mesures d'éthanol dans la partie aval de l'estuaire de l'Escaut, où les concentrations trouvées sont de même ordre que celles du lactate et de l'acétate.

Une estimation grossière et provisoire du stock des produits de fermentation a été obtenue dans le Tableau III en doublant la somme des concentrations en lactate et en acétate.

(1) - Si l'on exclut l'existence, en milieu naturel, d'un "contre-effet Pasteur" lié à une surabondance de substrat.

2.1.3.5. Urée.

Nous ne disposons pas de mesure de concentration de ce produit dont la présence en concentrations non négligeables a pourtant été attestée par plusieurs auteurs (voir tableau II).

Une valeur représentative semble être 0.5 $\mu\text{mole/l}$ soit 6 $\mu\text{grC/l}$.

2.1.3.6. Total provisoire.

Aucune certitude n'existe jamais quant au caractère exhaustif d'une énumération telle que celle que nous venons de faire des composés organiques directement utilisables. Par ailleurs, les incertitudes concernant l'extrapolation des dosages de substrats représentatifs au total de tous les substrats de cette catégorie ont été mentionnées (carbohydrates, produits de fermentation notamment).

Nous ne présentons donc le total provisoire du tableau III qu'à titre d'hypothèse de travail.

Elle constitue, dans l'état actuel de nos connaissances, la meilleure estimation par défaut du total des substrats directement utilisables par l'activité hétérotrophe.

Tableau III : Stock total des substrats directement utilisables ($\mu\text{grC/l}$)

Date	Protides Σ Ac.Am.	Glucides		Pdts d'excr. phytoplanc. Glycollate	Pdts de ferment. Acét+Lact		(Urée)	TOTAL provisoire
		Glucose	Σ Monosacch					
<i>Hansweert</i>								
19.07.77	25	-	-	48	< 12	24	6	-
21.10.77	22	10	33	-	< 12	24	6	-
07.04.78	14	15	50	108	36	72	6	250
21.04.78	10	15	50	108	79	158	6	332
19.05.78		10	33	-	< 12	24	6	-
moyenne (m - M)	18 10-25	13 10-15	43 33-50	88 50-100	30 0-100	60 0-200	6	215
<i>Ostende</i>								
18.07.77	29	-	-	43	58	120	6	-
07-08.10.77	-	-	-	-	180	360	6	-
18.18.77	30	-	-	-	-	-	6	-
05.04.78	15	9 (2)	30 (2)	72	58	120	6	243
02-19.04.78		7 (9)	23 (9)	-			6	-
19.04.78	7	10	33	74	31	62	6	182
16.05.78		9	30	-	< 12	24	6	-
11.07.78		8	26	-	-		6	-
moyenne (m - M)	20 7-30	8 1-20	26 3-60	63 40-75	68 0-200	136 0-400	6	251
<i>Calais</i>								
26.07.77	55	-		22			6	-
09-10.10.77	-	-		-			6	-
19.10.77	77	7	23	-	96	192	6	-
04.04.78	22	2	7	55	< 12	24	6	114
03.18.04.78	-	3 (7)	10 (7)	-			6	-
18.04.78 12h	11	1	3	55	< 12	24	6	99
17.05.78 24h	-	2	7	-	58	120	6	-
12.07.78	-	-	-	-			6	-
moyenne (m - M)	41 10-80	4 1-10	13 3-30	44 20-50	45 0-100	90 0-200	6	194

2.2. Dosage de la matière organique potentiellement utilisable (BOD₅)

2.2.1. Signification.

La mesure de la BOD₅, c'est à dire de la consommation d'oxygène après 5 jours d'incubation à l'obscurité, est la méthode classique de mesure de la matière organique potentiellement utilisable pour l'activité hétérotrophe au sens large.

Cette consommation d'oxygène comprend :

- la consommation relative à l'utilisation du stock des petits substrats directement utilisables;
- la consommation relative à l'utilisation des petits substrats produits au cours des 5 jours d'incubation par l'hydrolyse exoenzymatique de matières organiques non directement utilisables;
- la consommation relative à la respiration de matériel intracellulaire par le phytoplancton (généralement négligé dans les travaux classiques).

2.2.2. Résultats.

Les mesures de BOD₅ effectuées aux 3 stations utilisées au cours du cycle annuel juillet 1977 - juillet 1978 sont reprises au tableau IV.

2.2.3. Discussion.

La comparaison des valeurs de BOD avec l'estimation du stock de petits substrats directement utilisables montre que ceux-ci représentent environ 1/10 de la BOD. Si on suppose que la liste des petits substrats est presque complète et que peu de substrats quantitativement importants ont échappé à nos analyses, ce résultat peut être compris de deux manières : il montre l'importance du renouvellement du stock de ces substrats pendant les 5 jours d'incubation et/ou de la part de la respiration phytoplanctonique dans les mesures de BOD.

Une étude détaillée des phénomènes se déroulant au cours des mesures de BOD est nécessaire pour mieux comprendre la signification de cette mesure ; elle est prévue au programme de l'année prochaine.

Tableau IV. : BOD et TOC

Date	BOD ₅ μgrC/l	TOC μgrC/l	Carbohydrates totaux
<u>Hansweert</u>			
19.07.77	-		
21.10.77	988		3140
07.04.78	-		4980
21.04.78	-		2612
19.05.78	2680		3146
moyenne (n) m - M	1830 (2) 1000-3000		3469 (4) (2500-5000)
<u>Ostende</u>			
18.07.77	780		
07-10.10.77	535	5700	
15.10.77	1140	14100	
05.04.78	698	) 4000	
08-19.04.78	609		4033
16.05.78	1230		4280
11.07.78	1520		1280
moyenne (n) m - M	987 (25) 500-2000	7900 (15) (1500-1400)	3197 (3) (1300-4300)
<u>Calais</u>			
26.07.77	330	10300	
05-10.10.77	350 (3)	6900	
19.10.77	690	10800	2300
03-04.04.78	587 (3)	) 1800	
01-18.04.78	410 (7)		2254
17.05.78	20		3040
12.07.78	450		
moyenne (n) m - M	411 (17) (20-1200)	7450 (4) (1600-10000)	2530 (3) (2000-3000)

mesures effectuées par C.JOIRIS, R. SWAELENS et R. VAN THOMME, VUB (BOD, TOC)
J.WIJNANT, VUB (Carbohydrates)

2.3. Dosage de la matière organique totale

2.3.1. Signification.

Le principe de mesure de la matière organique totale consiste en une pyrolyse à haute température (850°C) et la détection du méthane ainsi libéré. Compte tenu des conditions de mesure, les matières dosées sont essentiellement sous la forme dissoute: 30 µl d'un échantillon d'eau de mer non filtré, dont le CO₂ a été éliminé par acidification et bullage.

Il est bien connu que cette méthode de pyrolyse (dry oxidation) fournit toujours des résultats plus élevés que les méthodes d'oxydation en milieu aqueux (wet oxidation). Les résultats obtenus comprennent sans doute l'ensemble du carbone organique, y compris les matières à turnover extrêmement lent parfois appelées "matières organiques fossiles".

Les sources d'erreur possible se situent du côté de la sous-estimation : d'une part par la soustraction de "blancs" d'eau distillée qui peuvent contenir de la matière organique, d'autre part par la perte de matières volatiles lors de l'élimination du CO₂.

La méthode au tryptophane, appliquée à des échantillons d'eau préfiltrés, permet le dosage des carbohydrates dissous; les résultats sont exprimés par rapport à un étalon glucose. Par rapport aux autres méthodes citées dans la littérature, celle-ci fournit les résultats les plus élevés et permet donc de doser les carbohydrates "totaux". Des tests ont montré que la cellulose est entièrement dosée par la méthode au tryptophane, mais pas l'amidon.

Des interférences ont été détectées au niveau des nitrates et des nitrites, qui réagissent également avec le tryptophane; aux concentrations maximales rencontrées en mer, une surestimation d'environ 20% des valeurs obtenues n'est pas exclue.

2.3.2. Résultats.

Les résultats obtenus dans le cadre des croisières "matières organiques" sont repris dans le tableau IV. En ce qui concerne les TOC, l'ordre de grandeur des valeurs citées dans la littérature pour des méthodes comparables est de 2 mg C l^{-1} en milieux océaniques (voir synthèse dans Williams, 1975). Il est vraisemblablement normal de trouver des concentrations égales et supérieures dans les eaux côtières que nous avons visitées. L'ordre de grandeur de ces mesures de TOC est en outre confirmé par les valeurs de carbohydrates totaux, qui se situent dans la même gamme.

2.4. Dosage de la matière organique particulaire

Les concentrations et la composition biochimique de la matière organique particulaire (POM) ont été discutées dans le rapport de synthèse du sous groupe "Phytoplancton".

Le tableau VI résume les dosage disponibles lors des campagnes "matière organique".

Tableau IV. : Dosage de la matière organique particulaire
en $\mu\text{grC/l}$

	POC	Σ protéines + hydrates de C + lipides
<u>Hansweert</u>		
19.07.77		895
21.10.77		346
07.04.78		2548
21.04.78		880
19.05.78		463
moyenne (n)	-	1196 (₅)
m - M		350-2500
<u>Ostende</u>		
18.07.77		1931
07-10.10.77		-
13.10.77		358
05.04.78		1280
08-19.04.78		-
10.05.78		461
11.07.78		-
moyenne (n)	1320	1007 (₄)
m - M	(530-2700)	350-2000
<u>Calais</u>		
26.07.77		233
08-10.10.77		-
19.10.77		146
03-04.04.78		121
07-18.04.78		83
12.07.78		
moyenne (n)	320	163 (₅)
	(200-600)	80-240

Mesures effectuées par Chr. Lancelot, ULB (Σ protéines, hydrates de C
et lipides)

et par (Helgdand) (POC)

2.5. Discussion générale des mesures de stock

2.5.1. En ce qui concerne les dosages de type "global" (TOC, BOD, POM, Carbohydrates totaux), l'ensemble des résultats obtenus forment un ensemble cohérent, par rapport aux données de la littérature.

Ainsi, le rapport entre la matière organique particulaire (POM) et la matière organique totale dissoute est de l'ordre de 1/10 dans les 3 milieux, conformément à ce qui est généralement observé tant en milieu océanique qu'en milieu côtier.

Le rapport entre la matière organique potentiellement utilisable (BOD) et la matière organique totale dissoute (TOC) est également de l'ordre de 1/10, ce qui est conforme aux données citées dans la littérature concernant les milieux marins les plus divers.

2.5.2. En ce qui concerne les dosages individuels de substrats directement utilisables, nos mesures sont dans la gamme des valeurs trouvées par d'autres auteurs tant en milieu côtier ou estuarien qu'océanique.

L'estimation que nous avons faite du stock total des substrats directement utilisables est, par nature même, très sujette à sous-estimation. Un moyen de contrôle consisterait dans le dosage du carbone organique total après ultrafiltration. Cette étude est prévue dans le programme de l'année 1979. Il est probable en effet que les substrats directement utilisables constituent la fraction de faible poids moléculaire (<500) de la matière organique dissoute dans les milieux naturels. On sait déjà par la littérature que cette fraction est faible (voir tableau VI).

Table VI. : Ultrafiltration ou dialyse de la matière organique.

Biotope	Fraction	%	Authors
<u>Sea water</u>			
Tokio bay	< 500	27	Ogura, 1974
Georgia coastal waters	< 1000	12	Wheeler, 1976
Sea water	< 400	10	Degens, 1968
Ucha reservoir (USSR)	< 400	10	Breger, 1968
Ucha reservoir (USSR)	< 300	8	Mirkina, 1977
Black sea	< 1500	69	Mirkina, 1977
Surface film (Black sea)	< 200	38	Starikova & al, 1977

2.5.3. Sur la base des résultats actuels, une première image de la spéciation de la matière organique se dessine : elle est résumée par le tableau suivant qui présente les ordres de grandeur des dosages effectués :

en $\mu\text{grC/l}$	substrats directement utilisables	BOD	POM	TOC
<i>Hansweert</i>	200	2000	1000	(10000)
<i>Ostende</i>	250	1000	1000	8000
<i>Calais</i>	200	500	200	7000
Milieu océanique typique (1)	(100)?	200	100	2000

(1). - Synthèse des résultats présentés par Williams(1975);
Parsons (1975) et Dawson (1975).

Les substrats directement utilisables sont présents à des concentrations remarquablement similaires dans tous les milieux étudiés. Ils ne constituent qu'une fraction très réduite de la matière organique totale.

La différence entre les 3 milieux semble se marquer surtout par la quantité de matériel organique potentiellement utilisable (BOD).

3. Vitesse d'utilisation.

3.1. Utilisation directe des vitesses relatives de turnover.

3.1.1. Détermination directe des vitesses relatives de turnover.

3.1.1.1. Méthode (voir détails dans BILLEN, JOIRIS, WIJNANT & GILLAIN, à paraître dans ECMS).

Les vitesses d'incorporation, d'une part, et de respiration d'autre part, de petits substrats organiques individuels ont été déterminées grâce à l'usage de substrats marqués de haute radioactivité spécifique, ajoutés en concentration négligeable par rapport aux concentrations naturelles.

On suit en cinétique sur des temps courts l'incorporation de radioactivité dans les cellules d'une part, et la production de CO₂ marqué d'autre part.

Les courbes obtenues en fonction du temps présentent le plus souvent une convexité (courbe d'incorporation) et une concavité (courbe de respiration) dans leur partie initiale (≈ 1ère heure d'incubation), avant de devenir linéaires.

L'analyse de ces courbes permet la détermination :

- de la vitesse totale d'utilisation (incorporation + respiration) : vitesse initiale d'incorporation;
- de la vitesse d'incorporation : vitesse d'incorporation dans la partie linéaire de la courbe;
- de la vitesse de respiration : vitesse de production de CO₂ marqué dans la partie linéaire de la courbe.

La concordance entre ces 3 déterminations indépendantes est montrée pour une série de situations dans le tableau VII.

Les rapports trouvés entre respiration et incorporation sont repris dans le tableau VIII. Les valeurs obtenues du rapport d'incorporation/utilisation totale sont en général plus faibles que celles citées dans la littérature, peut-être à cause d'une sous-estimation de la respiration dans la plupart des travaux antérieurs.

Tableau VII. : Comparaison entre la vitesse totale d'utilisation(en % h⁻¹) de quelques substrats organiques.

- a. par la somme de vitesse d'incorporation (estimée à partir de la pente de la courbe d'incorporation dans sa partie linéaire), plus la vitesse de respiration (estimée à partir de la pente de la courbe de respiration dans sa partie linéaire).
- b. pour la pente de la tangente de la courbe d'incorporation du temps initial.

Station	Substrate	a		b	
		Incorpore- tion	Respira- tion	Total utilisation	Total uptake
<i>Ostende</i> 18.07.77	Glycollate	0.096	1.03	1.13	1.12
<i>Hansweert</i> 19.07.77	Glycollate	0.32	1.80	2.12	2.00
<i>Hansweert</i> 21.10.77	Glucose	1.23	4.60	5.83	4.60
<i>Ostende</i> 18.07.77	Acetate	2.81	1.75	4.56	4.85
<i>Hansweert</i> 21.10.77	Acetate	2.10	7.90	10.00	5.07
<i>Ostende</i> 18.07.77	Lactate	0.68	0.92	1.60	1.63

Tableau VIII. : Rapport entre la vitesse d'incorporation et la vitesse d'utilisation totale pour différents substrats.

Substrate	Mean	Range	Number of determination
Amino acids (1)	0.32	0.16-0.50	17
Glycollate	0.15	0.05-0.25	8
Glucose	0.35	0.20-0.50	7
Acetate	0.41	0.20-0.60	12
Lacate	0.38	0.15-0.60	7

(1) - mesuré avec Alanine, Apartate et Lysine.

3.1.1.2. Résultats

L'ensemble de nos mesures de vitesse relative d'utilisation totale des substrats est repris au tableau IX.

3.1.1.3. Discussion

Dans l'ensemble, ces résultats montrent une différence considérable entre les différents milieux étudiés :

A Hansweert, les vitesses d'utilisation sont de l'ordre de $2-5 \% h^{-1}$;

A Ostende, elles sont de l'ordre de $0.5-2 \% h^{-1}$

A Calais, elles sont le plus souvent de l'ordre de $0.05 \text{ à } 1 \% h^{-1}$

Des variations saisonnières claires ne peuvent pas être déduites de nos mesures.

Tableau IX. : Vitesse relative (% h⁻¹) d'utilisation totale (I+R) des substrats.

<u>Hansweert</u>							
	Ala	Asp	Lys	Glycol	Glucose	Acet	Lact
19.07.77	-	-	-	1.80(0) 2 (+)	-	27 (0)	5.40(0)
21.10.77	4.90(+)	5.10(+)	7.60(+)	0 (0)	5.80(0) 4.60(+)	10 (0) 5.10(+)	0.67(+)
07.04.78 10h	2.30(*)	1.20(+)	3.20(+)	1.60(+)	3.10(*)	5.10(+)	0.85(+)
21.04.78 10h	4.10(*)	4.40(+)	3.60(+)	3.00(*)	2.70(*)	10.20(+)	1.30(*)
19.05.78 10h	7.20(*)	0 (+)	0 (+)	2.00(*)	6.50(+)	11.80(*)	1.50(*)
MOYENNE	4.60	2.70	3.60	1.70	4.40	12.30	1.90
<u>Ostende</u>							
18.07.77	-	-	-	1.10(+)(0)	-	4.56(0) 4.85(+)	1.60(0) 1.63(+)
07-08. 10.77	0 (+)	0.39(+)	0 (+)	0.44(+)	0.46(+)	0 (+)	0 (+)
18.10.77	0 (+)	0.93(*)	1.80(*)	0 (+)	1.70(*)	0.24(*)	0.24(*)
05.04.78	0.75(+)	0.72(*)	3.30(+)	0.18(+)	1.10(+)	0.15(+)	0.11(+)
02-19.04.78	-	-	-	-	-	-	0.20(+)
19.04.78	5.00(+)	5.70(+)	0.65(*)	0.20(*)	1.30(*)	0.17(*)	0.03(*)
16.05.78 12h	1.90(*)	3.90(*)	7.10(*)	0 (+)	12.30(+)	1.70(*)	4.80(*)
24h	-	-	-	-	-	-	-
11.07.78	0 (+)	0 (+)	0.26(+)	0 (+)	0 (+)	0.04(+)	0 (+)
MOYENNE	1.20	1.90	2.20	0.27	2.80	1.00	0.87
<u>Calais</u>							
26.07.77	-	-	-	0 (+)	-	0.07(+)	0.05(0)
09-10.10.77	2.40(*)	0.62(+)	1.50(*)	0.46(+)	0.21(+)	0.16(+)	0.13(*)
19.10.77	0	0 (+)	0.22(*)	0 (+)	0 (+)	0.04(+)	0.04(*)
04.04.78	0.44(*)	0 (+)	1.10(+)	0 (+)	0.83(*)	0.07(+)	0.01(*)
03-18.04.78	0.50(*)	-	-	-	-	-	0.05(*)
18.04.78 12h	0 (+)	0 (+)	0.19(*)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0.01(*)
24h	0.12(+)	0 (+)	0.56(+)	0 (+)	0 (+)	0.10(+)	0.03(*)
17.05.78	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)
12.07.78	0 (+)	-	4.80(*)	0 (+)	0.49(*)	-	0.03(*)
MOYENNE	0.43	0.10	1.20	0.06	0.22	0.06	0.04

0 somme de I et R, mesurés séparément.

+ pente initiale de la courbe d'incorporation en f^{er} du temps.

* estimation de(I+R) à partir de la valeur de I et d'I coeff. moyen $\frac{I}{(I+R)}$

3.1.2. Vitesse absolue d'utilisation des substrats directement utilisables.

Le produit de la vitesse relative de turnover d'un substrat par la concentration de ce substrat représente la vitesse absolue d'utilisation de ce substrat.

Le tableau VIII présente par catégorie de substrat, le stock total tel qu'estimé au tableau III, la vitesse moyenne de turnover et la vitesse absolue d'utilisation.

La colonne total présente la somme des vitesses absolues d'utilisation de chaque catégorie de substrats directement utilisables (pour l'urée, on a choisi une vitesse relative de turnover égale à la moyenne des vitesses relatives de turnover des autres substrats).

Il s'agit là, dans l'état actuel de nos connaissances, de la meilleure estimation par défaut de l'activité hétérotrophe vraie.

3.2. Vitesse initiale de consommation d'oxygène.

3.2.1. Signification

La vitesse de consommation d'oxygène, mesurée à l'obscurité, sur des temps courts représente l'activité hétérotrophe au sens large, c'est-à-dire y compris la respiration du phytoplancton.

3.2.2. Résultats

L'ensemble des résultats disponibles relatifs aux campagnes "matière organique" est présenté dans le tableau IX. Les résultats y sont donnés en $\mu\text{grC/l.h}$, tenant compte d'un quotient respiratoire moyen de 0.85.

Tableau IX. : Vitesse initiale de consommation d'oxygène.

µgrC/l.h

Hansweert

19.07.77	11
21.10.77	11.50
07.04.78	-
21.04.78	-
19.05.78	-

moyenne	11.30
---------	-------

Ostende

18.07.77	1.30
03-08.10.77	10.00
18.10.77	8.80
05.04.78	-
02-19.04.78	-
19.04.78	-
16.05.78	-
11.07.78	-

moyenne	6.70
---------	------

Calais

26.07.77	-
09-10.10.77	0
19.10.77	-
04.04.78	17.70
03-18.04.78	25.50
18.04.78	12h -
	24h -
17.05.78	2.00
12.07.78	0.80

moyenne	9.20
---------	------

Mesures effectuées par C. Joiris, R. Swaelens et R. Van Thomme.

3.3. Discussion générale.

L'estimation de l'activité hétérotrophe au sens strict obtenue par mesure de l'utilisation des petits substrats directement utilisables est dans tous les cas nettement inférieure à l'activité hétérotrophe au sens large, estimée sur base de la consommation initiale d'oxygène. La différence est d'un ordre de grandeur dans le cas de la Station de Calais.

Il faut se souvenir toutefois que l'activité hétérotrophe au sens strict est une estimation par défaut dans la mesure où certains petits substrats éventuellement utilisés avec une grande vitesse de turnover, peuvent avoir échappé à l'analyse.

La validité des hypothèses sur lesquelles s'appuie cette estimation pourrait être testée par quelques expériences réalisées sur de l'eau de mer ultrafiltrée (fraction < 500D):

1° Tout d'abord le stock total des substrats directement utilisables estimé par dosages spécifiques doit être égal au dosage du TOC dans la fraction ultrafiltrée (voir plus haut).

2° La vitesse initiale de consommation d'oxygène dans une eau ultrafiltrée après réensemencement bactérien doit être égale à la vitesse initiale de consommation d'oxygène dans une eau témoin filtrée sur 0.2 μ mais non ultrafiltrée, reensemencée de façon identique; le BOD₅ dans l'eau ultrafiltrée doit être considérablement plus basse que dans l'eau filtrée témoin.

4. Régulation de l'activité hétérotrophe.

La plupart des modèles classiques utilisés jusqu'ici pour modéliser l'interaction matière organique-bactéries dérivent essentiellement du modèle de Streeter et Phelps (1925) selon lequel l'activité hétérotrophe globale est supposée proportionnelle à la charge organique totale (ou potentiellement utilisable). La reconnaissance de ce que seule une petite fraction de la matière organique totale est directement utilisable par les microorganismes avait fait naître l'espoir de trouver dans la concentration des substrats directement utilisables le facteur déterminant les différences d'activité hétérotrophe globale entre milieux. Paradoxalement, cependant, et c'est l'un des résultats les plus importants du travail du groupe, la concentration en substrats directement utilisables ne varie pratiquement pas dans la gamme des milieux étudiés, alors que des différences considérables s'observent dans leur taux d'utilisation. L'explication de cet apparent paradoxe est fournie par un modèle très simple qui sera discuté ci-dessous.

Ce modèle suggère aussi que l'intensité de l'activité bactérienne hétérotrophe est déterminée en fait par la vitesse de production des substrats directement utilisables, soit par excrétion phytoplanctonique, soit par hydrolyse exoenzymatique de polymères organiques. Une rapide discussion des données existant dans la littérature sur la cinétique des réactions exoenzymatiques en milieu naturel est abordée ci-après.

4.1. Constance des concentrations de substrats directement utilisables.

Considérons un substrat directement utilisable S , produit à une vitesse p , soit par hydrolyse exoenzymatique, soit par excrétion phytoplanctonique, et prélevé par la population bactérienne présente, de densité B , selon une loi Michaelienne.

$$\frac{dS}{dt} = p - \frac{V_{\max} S}{K_m + S} B \quad (1)$$

Si l'on suppose que les bactéries croissent avec un rendement constant Y par rapport à leur utilisation de substrat, et que leur mortalité est de type aléatoire, c'est à dire proportionnelle à la densité, on peut écrire

$$\frac{dB}{dt} = Y \frac{V_{\max} S}{K_m + S} B - k_B \quad (2)$$

A l'état stationnaire, le système (1) et (2) a pour solution:

$$B = Y/k \quad p \quad (3)$$

$$S = \frac{K_m}{\left(\frac{V_{max} Y}{k} - 1\right)} \quad (4)$$

On voit que la densité bactérienne stationnaire est proportionnelle au flux de production ce substrat, tandis que la concentration de ce substrat est indépendante de ce flux. Elle ne dépend que de paramètres purement physiologiques de la souche bactérienne qui l'utilise.

La validité de l'hypothèse de stationnarité a été testée en calculant l'évolution du système au cours du temps (voir Billen et al, en préparation). Après une perturbation, les conditions stationnaires sont restaurées en une période de l'ordre du jour. Lorsqu'interviennent des fluctuations journalières de la vitesse de production des substrats, la concentration en substrat et la population bactérienne varient peu autour de leur valeur stationnaire.

Le modèle permet aussi de rendre compte de l'ordre de grandeur des concentrations mesurées des substrats organiques, lorsque des valeurs numériques raisonnables pour les constantes physiologiques des bactéries sont introduites dans la relation (4).

4.2. Données sur l'action des exoenzymes.

L'autolyse spontanée des macromolécules organiques est un phénomène extrêmement lent au pH de la plupart des milieux naturels. Ce n'est donc que par l'action des exoenzymes que la matière organique de haut poids moléculaire peut être source de substrats directement utilisables.

Par filtration douce sur membrane de 0.2 μ de porosité d'échantillons de 0.5 à 1 l d'eau de mer, d'estuaire ou d'eau interstitielle de sédiments marins, puis concentration par dialyse contre du polyéthylène glycol, Kim et Zobell (1974) ont réussi à mettre en évidence la présence d'exophosphatase, d'exoamylase et d'exoprotéase dans la plupart des milieux naturels testés.

La production d'exoenzymes par les bactéries est soumise à une série de mécanismes de régulation physiologique mis en évidence en cultures pures.

La production d'exoenzymes est réprimée par la présence du produit de leur activité: ainsi, chez *Bacillus subtilis*, le glucose réprime la production d'amylase (Green & Colarusso, 1964) et les acides aminés, celle de la protéase (May & Eliott, 1968; Neumark & Citri, 1962).

La production d'exoenzymes peut également être soumise à la répressionatabolique: ainsi, les exoprotéases de *Bacillus subtilis* sont réprimées par le glucose (Hofsten, 1965).

Très peu de données existent concernant la cinétique d'action des exoenzymes dans les milieux naturels. Kailov & Finenko (1970), lors d'expériences sur des polysaccharides et des protéines naturelles marquées (extraites de cultures d'algues) ont montré l'importance des surfaces dans la dégradation exoenzymatique des macromolécules. A des concentration en macromolécules proches des concentrations naturelles, 50 à 60 % des polysaccharides et des protéines s'adsorbent sur de la matière en suspension naturelle ou sur de la poudre de verre. L'hydrolyse des macromolécules absorbées est rapide (33% par jour) et aboutit à la désorption des monomères qui sont ensuite absorbés par les microorganismes.

La mise en évidence semi-quantitative des exoenzymes dans les milieux marins étudiés est prévue au programme des campagnes prochaines.

Il n'est pas exclu en effet que se soient des différences au niveau de la vitesse d'hydrolyse exoenzymatique de la matière organique qui expliquent en dernier ressort les différences d'intensité de l'activité hétérotrophe dans les milieux côtiers, estuariens et de haute mer.

ACTIONS CONCERTÉES EN Océanographie
RAPPORT D'ACTIVITÉ
1978

ANNEXE N° 11

Concentration and microbiological utilization of small organic
molecules in the Scheldt estuary, the belgian coast zone of the
North sea and the english channel

CONCENTRATION AND MICROBIOLOGICAL UTILIZATION OF SMALL
ORGANIC MOLECULES IN THE SCHELDT ESTUARY, THE BELGIAN
COASTAL ZONE OF THE NORTH SEA AND THE ENGLISH CHANNEL. (1)

Gilles BILLEN (2)
Claude JOIRIS (3)
Jan WIJNANT (3)
Gérard GILLAIN (4)

~~55479~~

55480

SUMMARY

Concentration and utilization rate of alanine, aspartate, lysine, glucose, acetic and lactic acids have been determined at six occasions at least, during a whole seasonal cycle in the water column of three stations (Scheldt estuary, coastal North Sea and English Channel) greatly differing in biological characteristics.

No significant differences in substrate concentration could be detected between the three stations, although the rate of utilization of all substrates greatly differed, decreasing in the order estuarine > coastal > open sea environment.

-
- (1) - Contribution nr 1 of the "Organic matter" group of the "Actions de Recherche Concertées en Océanographie", Ministère belge de la Politique Scientifique.
(2) - Laboratoire d'Océanographie, Université de Bruxelles (Belgium)
(3) - Laboratorium voor Ekologie en Systematiek, Universiteit van Brussel (Belgium)
(4) - Laboratoire d'Océanographie, Université de Liège (Belgium)

This apparent paradox is explained by aid of a very simple model showing that the steady state concentration of a particular substrate is independent on its rate of production (and thus of consumption) but only depends on purely physiological characteristics of the bacteria. When using published data for the pertinent physiological parameters of marine bacteria, the model accounts for at least the order of magnitude of substrates concentration observed, and the lack of important seasonal variations.

INTRODUCTION.

Growing evidences show the quantitative importance of planktonic bacterial heterotrophic activity in the carbon cycle of marine ecosystems: Although it has often been assumed in the past that most of the produced organic matter flows through the zooplankton-fish trophic chain, it now becomes evident that planktonic bacterial activity constitutes, at least in some coastal marine environments, a very important by-pass. (JOIRIS, 1977)

Yet, too few research efforts have been devoted to the basic relationships between organic matter and bacterial heterotrophic activity. In most ecological models it is simply assumed that heterotrophic activity is directly proportional to "total organic load", determined as BOD, COD or TOC.

Most of this organic load (75-99%) in sea water is known to exist as dissolved organic matter (Sharp, 1973). However, dialysis or ultrafiltration reveals that the most important part of dissolved organic matter in sea water is made of macromolecules with molecular weight higher than 400-500 (See table I).

The penetration of an organic molecule across a bacterial cell wall is an active process occurring with the intervention of specific enzymes called permeases. Only low molecular weight organic molecules (monomers or small polymers) can therefore be taken up. Only through the production of exoenzymes can particles or high molecular weight molecules be ultimately absorbed by bacteria. (Rogers, 1961).

Phagocytosis of particles is not developed by bacteria. Therefore the pool of directly usable organic matter is made of the pool of low molecular weight organic molecules. This pool is alimented either by direct excretion of phytoplankton or by exoenzymatic hydrolysis of particles and macromolecules.

A promising approach for showing the relationship between organic matter and heterotrophic activity in aquatic ecosystems consists therefore in determining the in situ concentration and utilization rates of directly usable low molecular weight organic molecules.

This paper presents the results of such determinations performed comparatively in three marine environments greatly differing in their overall biological characteristics ; an estuarine, a coastal and an open sea environment. Among the very long list of possible organic substrates, we selected those which seemed to us the most representative : amino acids (Aspartate, Alanine and Lysine being selected as the representative examples of acid, neutral and basic aminoacids for utilization rate measurements), glucose (as a biologically representative carbohydrate monomer), glycollic acid (which is often considered as one of the most important excretion product of phytoplankton (Fogg, 1962) , lactate and acetate (which are important fermentation products).

The results will then be interpreted with the aid of a very simple model intended to show the -not always trivial- link between the basic physiological laws of the microbiological processes involved and their overall ecological manifestations as observed in situ.

BIOTOPES and METHODS

1. ENVIRONMENTS STUDIED

Fig. 1 shows the three stations considered in this study. The estuarine station, Hansweert, is located on the Scheldt estuary, at 35 km from the sea. Depending on the tides, salinity varies between 19 and 27‰.

The station "Ostend" ($51^{\circ}24'00''\text{N}$, $2^{\circ}48'00''\text{E}$), is located in the belgian coastal zone of the North Sea.

Salinity in this zone ranges from 30 to 34‰ and the mean depth is 15 m.

The station "Channel" ($50^{\circ}57'30''\text{N}$, $1^{\circ}23'30''\text{E}$), located on the eastern part of the English Channel, is characterized by Atlantic waters with salinities higher than 34‰.

These three stations were visited 6 times between juli 1977 and juli 1978, generally at noon. In addition, some parameters were measured several times at closer intervals at the coastal and Channel stations during special cruises in october 1977 and april 1978.

2. COLLECTION, TREATMENT AND CONSERVATION OF THE SAMPLES.

Samples were collected at 3 m depth with polyethylene Nyskin's bottles.

Biological incubations were immediately initiated.

Samples for chemical analysis were filtered through GF/C Whatmann glass fiber filter.

For amino-acid, glucose, lactate and acetate determinations, the filtrated samples were immediately deep-frozen in polyethylene flasks.

Adsorption on alumina for glycollate determination occurred immediately; alumina was then kept deep-frozen until analysis.

3. CHEMICAL DETERMINATION.

For amino-acids determination, desalting of the sample is achieved on ligand-exchange resin (Chelex 100, Bio-Rad) converted to the Cuform (Siegel & Degens ; 1966 ; Andrews and Williams , 1971 ; Clark , 1971).

Two liters of sample are passed through the column at a flow rate of 3 ml/min. After washing with distilled water, the amino-acids are eluted together with the copper with 160 ml 3M/ NH_4OH . Cu is eliminated by further passing the solution on a Chelex 100- NH_4^+ column. After evaporation, the amino acids are redissolved with 3 M HCl and a final desalting is carried out on Dowex 50 (H^+ form). The column is then rinsed with distilled water and eluted with 80 ml of 1M NH_4OH . The ammoniacal eluate is completely evaporated to remove the ammonia. The amino acids are then dissolved in 1 ml of citrate buffer for automatic high pressure ion exchange chromatography (BECKMAN, model 120).

Blank test were made with ultra-violet irradiated seawater following the same procedure and using the same volumes as for the analysis of the seawater samples.

The contamination from distilled water or from the resins is not significant : serine and glycine give a blank equivalent to $0.007 \mu\text{M/l}$. For each of the remaining amino acids, the blank is less than $0.001 \mu\text{M/l}$.

The recovery of the whole procedure was tested with standard solution of amino acids in artificial sea water. The recovery of all amino acids was found in the range 80 to 107 %, except for glutamine (33 %) and methionine (56 %). This percentage recovery is used to correct the results from natural seawater samples.

For glycollic acid, a quite specific colorimetry has been described by Calkins (1943), based on the reactions of formaldehyde, formed by oxidative decarboxilation of glycollic acid in concentrated H_2SO_4 , with 2.7 dihydroxynaphtalene. Concentration of glycollate from natural samples can be achieved by adsorption on alumina, followed by desorption with concentrated acid as proposed by Shah and Fogg (1973) and by Shah and Wright (1974). The procedure of the latter authors has been adopted with only minor modifications.

For glucose, acetate and lactate determinations, enzymatic methods were developed by modification of the methods used in food analysis (Boehringer-Manheim, 1976). Optimisation of sample and reagents volumes, and use of fluorimetry instead of spectrophotometry allow to determine the three substances down to a concentration of 0.1 μ M. The detailed procedures used are summarized in table I. Dawson and Gocke (1977) have stressed the point that trace metal complexation may serve to render an organic substrate unavailable to microorganisms. The use of enzymatic processes, performed with minimal treatment of the sample guarantees that the measured concentration of organic substrates is representative of the stock actually available for biological utilization.

4. DETERMINATION OF THE UTILIZATION RATE.

The rate of individual organic substrates incorporation on the one hand, and respiration on the other hand, were determined by use of high specific activity ^{14}C labelled substrates.

The following amount of radioactivity were added to 250 ml of freshly collected sea water :

0.1 μ Ci Alanine	(sp.act. 100 μ Ci/ mole)
0.1 μ Ci Aspartate	(" 215 ")
0.1 μ Ci Lysine	(" 340 ")
0.1 μ Ci Glycollate	(" 10 ")
0.1 μ Ci Glucose	(" 240 ")

1 μ Ci Acetate	(sp. act. 50 μ Ci/ μ mole)
1 μ Ci Lactate	(" 30 "),

so that the amount of substrates added can be considered negligible with respect to natural concentrations. The samples are then incubated in the dark at in situ temperature. At intervals during 4 hours, subsamples of 20 ml are collected and filtered through 0.2 μ membrane filters. The radioactivity retained on the filter is counted by liquid scintillation and provides an estimation of substrate incorporation by microorganisms. The filtrate is collected in 2N NaOH; on return to the laboratory, it is acidified and bubbled for extracting the CO₂ which is then trapped (Fig. 2) in a mixing of Carbo-sorb (Packard) and Lipoluma (Lumac) (1:4) for radioactivity counting. This provides an estimation of substrate respiration by microorganisms. An eventual fermentation of the substrate into another organic molecule would not be detected by this method.

Examples of these measurements are shown on Fig. 3. As seen, the incubation was usually prolonged during 4 hours, but sub-samples were collected and treated every 15 or 20 minutes during the first hour, in order to obtain an accurate picture of the initial trends of incorporation and respiration. The curves obtained as a function of time are sometimes linear from the beginning of the experiment. Most often, however, the incorporation curve presents a small convexity, and the respiration curve, a small concavity during about the first hour of incubation, before becoming linear

Hobbie and Crawford (1969) and Williams (1970) report that they did not observe any lag in the respiration of the organic substrates. To our knowledge, however, they did not use incubation times as short as ours, so that such a phenomenon could have escaped notice. The existence of this lag in the respiration curve can be interpreted by considering that the production of $^{14}\text{CO}_2$ by respiration is under the dependence of the specific radio-activity of the intra-cellular pool of the substrate considered, which requires some time to reach a stable value. Conversely, the incorporation curve, in its initial part represents the total uptake of the substrate, while its further linear part represents the net uptake, used for biosynthetic purposes.

If this interpretation is correct, the slope of the tangent to the incorporation curve at initial time must be equal to the sum of the rate of biosynthetic incorporation (given by the slope of the curve in its linear part) plus the rate of respiration (given by the slope of the respiration curve in its linear part).

In a few situations, the data for this comparison are available; table II shows that the accordance is quite good, giving support to our interpretation.

Table III summarizes for the different substrates the ratio between incorporation and total uptake (=incorporation plus respiration) that we measured in this study.

For most substrates, this ratio (called "growth yield" by Williams 1970) ranges between .30 and .40, indicating a mineralization of about 2/3 and a metabolisation of about 1/3 of the substrate taken up. Only for glycollate is the growth yield far lower, indicating that this substrate is not a good biosynthetic substrate for heterotrophs. Although these figures are quite reasonable in the light of general physiological knowledge (Forrest, 1969), they are considerably lower than most similar data reported in the literature. Most authors reported growth yields of about .66-.87 for amino acids, .51-.86 for glucose, .36-.39 for glycollate and .67 for acetate (Hobbie and Crawford, 1969; Williams, 1970; Wright and Shah, 1975; Williams et al, 1976; Stanley and Staley, 1977; Dawson and Gocke, 1978).

As will be indicated the mean values of the growth yield we measured, shown in table III, have been used for calculating total utilization rates in the situations where only incorporation data were available.

RESULTS .

1. CONCENTRATION OF SUBSTRATES

Table IV a and b presents the values of amino acids, glycollate, glucose, acetate and lactate concentration measured in the three stations considered, over an annual cycle. As can be seen, no significant seasonal variations appears from these values, which

fluctuate, apparently at random, within a rather narrow range: 0.01 - 0.2 μ moles/l for the main amino acids, 1 - 5 μ moles/l for glycollic acid, 0.01 - 0.1 μ mole/l for glucose, 0.2 - 5 μ mole/l for acetic and lactic acids. Surprisingly, these ranges are the same for the 3 environments under study, in spite of the great differences in ecological characteristics between them. Only amino acids at the station "Channel" display significantly higher values than at the 2 other stations.

These values are comparable with those found by various authors, either in open sea, coastal, estuarine- or freshwater environments. Thus, individual amino acid concentrations are generally found in the range 0 - 0.2 μ mole/l (see Williams, 1975; Hobbie et al, 1968; Chau and Riley, 1966; Dawson and Gocke, 1978;).

Glycollate concentrations in the range 0 - 2 μ mole/l are reported by Anitua et al (1963), Wright and Shah (1975), Al Hasan (1975) Shah and Wright (1974).

Glucose is generally presents on concentrations between 0.005 and -2 μ mole/l (Andrews and Williams, 1971, Degens et al 1964; Josefson, 1970).

Acetate concentration between .1 and 10 μ mole have been reported by Koyano et al (1959) and Stanley and Staley (1977).

The lack of systematic important differences in the concentration of small organic substrates in all natural waters is a quite remarkable fact.

2. RATE OF UTILIZATION.

Table V presents the values of total utilization rates (incorporation plus respiration) of the 7 substrates as determined in the 3 stations considered and expressed as a percentage of added radioactivity used per hour. This can be used as a measure of the turnover rate of the substrate.

Seasonal variations are not very evident, although maximum values in the late spring or the summer are often observed. Geographical variations, on the other hand are quite clear. All substrates are much more rapidly used in the estuarine than in the coastal station. In the open sea, the utilization rates are still smaller and often lie close to the detection limit of the method.

Substrate to substrate comparizon shows that amino acids have high, and similar turnover rates. Glycollate has considerably lower turnover rates. However, concentration being far higher, the absolute rate of utilization is most often of the same order of magnitude as this of the glucose or aminoacids. Glycollate being often considered as one of the main excretion products of phytoplankton, this is important for assessing the role of phytoplanktonic excretion as a source of directly usable organic substrates for heterotrophic bacteria.

Acetate and lactate turnover rates are quite similar to these of amino acids and glucose. As far as is known, these acids are not important excretion products of algae (Fogg, 1962), but are important products of fermentative metabolisms. Their presence and utilization at high turnover rates in oxygenated sea water are therefore an indication of the occurrence of fermentation metabolisms in these environments.

DISCUSSION.

The most important conclusion of this investigation results from the lack of correlation observed between the trends of geographical variations of substrates concentration on the one hand, and of utilization rates on the other hand : substrates concentrations are not very different in the 3 stations considered, while utilization rates differs greatly in the order estuarine > coastal > open sea stations.

This might seem paradoxal at first look because - both implicitly in the mind of most microbiologists and explicitly in numerous models-, concentration of substrates is generally considered as directly determining the rate of heterotrophic activity.

In his general review of literature data concerning concentrations and utilization rates of dissolved organic compounds in sea water, Williams (1975) already stressed the similarity in free amino acids concentrations in estuarine, coastal and oceanic waters, in spite of great differences in their rate of uptake by microorganisms in these three environments. He also indicated that increases of free amino acids concentrations, as a result of planctonic activities can occur, but do not persist for longer than a few days, and are not likely to be observed, unless very intensive sampling programs are performed.

All these facts suggest a close regulation of individual substrates concentration by microbial activity. The following idealized model is intended to investigate the possible mechanisms and properties of this regulation.

1. MODEL OF SUBSTRATE UPTAKE.

Let us consider a particular directly usable substrate S , produced at a rate P either by exoenzymatic hydrolysis of macromolecules or by phytoplanktonic excretion, and taken up by the present bacterial population at a rate determined by substrate concentration S and by bacterial density B (Fig.4.). Let us use a Michaelis-Menten relation between individual uptake by a single bacterium and substrate concentration.

This hypothesis is made for the sake of clarity of the foregoing calculations, but another hypothesis would not qualitatively alter the conclusions.

The rate of production P will be treated in this very simple model as a driving parameter.

The rate of variation of substrate concentration can therefore be written :

$$\frac{dS}{dt} = P - \frac{V_m S}{K_m + S} B \quad (1)$$

If it is supposed that the bacteria grow with a constant yield factor Y relative to their uptake of the substrate, and that their mortality is random, i.e. proportional to their density, the variation rate of the bacterial population can be written :

$$\frac{dB}{dt} = Y \frac{V_m S}{K_m + S} B - k_B B \quad (2)$$

When a stationary state is reached, the differential equations (1) and (2) are reduced to the algebraic system

$$P \frac{V_m S}{K_m + S} B = 0 \quad (3)$$

$$Y \frac{V_m S}{K_m + S} B - k_B B = 0 \quad (4)$$

of which the solution is

$$B = Y/k \quad P \quad (3)$$

$$S = \frac{K_m}{\frac{V_m Y}{k} - 1} \quad (4)$$

It is seen that at stationary state, substrate concentration is independent on its rate of production. It only depends on purely physiological characteristics of the bacteria. The density of bacteria on the other hand, is directly affected by the rate of substrate production and this alone explains that total utilization rate is equal to the production rate of the substrate.

2. VALIDITY OF THE STEADY STATE ASSUMPTION.

The time evolution of the system before a stationary state is reached is illustrated for a few situations in Fig. 5, 6 and 7. Use of reduced variables allows to describe this evolution without hypothesis about the numerical value of the physiological parameters.

Fig. 5 shows the evolution of substrate concentration and number of bacteria from the stationary state after a sudden increase of the production rate. After a period of time corresponding to one turnover time of the bacterial population, the concentration of the substrate reaches a maximum.

It decreases then very rapidly down to the steady state value, independent, as has been stated, on the new production rate. The number of bacteria increases, during two turnover time, and then decreases again down to its new steady state, depending on the production rate.

Fig. 6a presents the evolution of substrate concentration and bacterial density after a sudden increase of substrate concentration, without modification of the production rate P . This is for instance the case of an instantaneous dumping of the substrate in a system previously at steady state. It is seen from Fig. 6a that substrate concentration decreases to low values in a period of time corresponding to about one turnover time of the bacterial population, independently of the value of the initial concentration increase. Similar results have been obtained both experimentally and theoretically by Williams & Gray (1970). They stressed the point that the absolute rate at which added amino acids or glucose were respired was proportional to the quantity of substrate initially added. Fig. 6b shows indeed that the maximum bacterial density - and therefore the maximum uptake rate - reached after a sudden increase of substrate concentration is proportional to this increase.

Fig. 7 shows the effect of sinusoidal variations of substrate production : this would be the situation if the production rate of the substrates was under direct and immediate influence of the photosynthetic activity (light-dependent phytoplanktonic excretion, for instance).

The results of fig. 7 shows that under this circumstances, daily variations occur both in number of bacteria and in substrate concentration around the value of the stationnary state corresponding to the daily mean production rate. These variations, however, are rather limited (less than 30 %) as long as the maen turnover rate of the substrate is less than $6 \text{ \%h}^{-1}$ (case of fig. 6a and b). They are only likely to be observed in environnement supporting very high rates of organic substrates production (and consumption), where the turnover rates exceeds $10 \text{ \%h}^{-1}$ (case of fog. 6c).

In the frame of this model, one can conclude that substrate concentration and bacterial density in natural environment can be considered in most situations as being in steady state with respect to substrate production rate : after a sudden perturbation, steady state conditions are restored within about one day (one turnover time of the bacterial population); when periodic fluctuations occur in the production rate, even with a period equal to the turnover time of the bacteria, substrate concentration and bacterial density do not vary a lot around their steady state value.

3. QUANTITATIVE PREDICTIONS OF THE MODEL.

The model must now be checked on a quantitative basis. Relation (4) expresses the stationary state value of substrate concentration as a function of physiological characteristics of bacteria.

In order to compare this expression with our own observations, we have to discuss the numerical value of these physiological parameters.

K_m values for different substrates have been determined in sea water by numerous authors (see for instance the review of Seepers, 1977). Most measurements lie in the following ranges :

Amino-acids	:	0.03 - 1	μmole/l (Seepers, 1977)
Glucose	:	0.01 - 0.3	(Seepers, 1977)
Glycollate	:	0.6 - 3.0	(Wright & Shah, 1975)
Acetate	:	0.1 - 5	(Seepers, 1977; Stanley & Staley, 1977)

Y, the yield coefficient, expressing the number of bacteria formed per mole of substrate utilized can be calculated as :

$\frac{\alpha}{C}$ (where α represents the part of total substrate taken up used for biosynthetic purposes, and C the carbon content of a single bacterial cell).

α is generally about 0.3 to 0.4 (see table III), while Q is about $0.25 - 0.5 \cdot 10^{-8} \mu\text{moleC}/_{\text{bact.}}$ (Stanier et al, 1970)

Y is therefore about $10^8 \text{bact}/_{\mu\text{moleC.}}$

V_m, the maximum uptake rate per bacterium has been determined for marine strains in a few cases.

White (1969), working with Southampton water, and Hobbie and Wright (1965) in Lake Erken, both report values about $0.1 \cdot 10^{-8} \mu\text{mole C/bact.h.}$

Gocke (1975), working in the German Bight of the North Sea, estimated it as 0.03 and $0.07 \cdot 10^{-8} \mu\text{mole C/bact.h.}$ for glucose and acetate respectively.

On the other hand, Jannasch (1967 and 1968) has measured the maximum growth constant of marine bacteria when incubated with glucose or lactate as the sole substrate. His measurements are in range $0.15 - 0.8 \text{ h}^{-1}$. Taking into account the value of Y just discussed, the corresponding maximum rates of uptake are in the range $0.15 \cdot 10^{-8} - 0.8 \cdot 10^{-8} \mu\text{mole C/bact.h.}$

As far as we know, very few data exist in the literature concerning the mortality of bacteria. An estimation of mortality constant can however be obtained from the rate of decrease of bacterial density in environmental situations where growth is stopped. The measurements of Joiris (1973) in a closed marine lagoon for instance allow a mortality constant of about 0.12 h^{-1} to be calculated. As this probably represents mortality in adverse conditions, the value of $k = 0.05 \text{ h}^{-1}$ has been chosen here for the mortality constant in natural conditions.

With these values of the physiological parameters (Y about 10^8 bact/ μ mole C; V_m about $0.2 \cdot 10^{-8}$ μ mole C/bact.h. , k about 0.05 h^{-1}) a reasonable estimate of the steady state value of substrate concentration can be made according to relation (4)

$$S = \frac{K_m}{\frac{V_m Y}{k} - 1} \approx \frac{K_m}{3}$$

which provides the following results :

Amino acids	:	0.01 - 0.3	μ mole/l
Glucose	:	0.003- 0.1	
Glycollate	:	0.2 - 1	
Acetate	:	0.03 - 2	

These ranges are indeed quite compatible with the measurements reported here (see table IV) and in the literature.

The very simple model discussed here explains thus both qualitatively and quantitatively our observations :

- Qualitatively, it explains why substrates concentrations are not very different in estuarine environments, characterized by high heterotrophic activities and in open sea, with only very low heterotrophic activity, by showing that the steady state concentration of a substrate is independant of its rate of production.

- Quantitatively, it accounts for at least the order of magnitude of substrates concentration observed, as well in this study as in most other investigations published in the literature.

Aknowledgments.

Part of the experimental work was done on board of the German R.V. "Friedrich Heincke" (7 to 10 october 1977, 7 to 18 april 1978), the rest on board of the R.V. "Mechelen".

We are pleased to aknowledge the technical assistance of R. VANTHOMME and R. SWAELENS, Vrije Universiteit Brussel.

TABLE I Ultrafiltration or dialysis of dissolved organic matter.

Biotope	Fraction	%	Authors
<u>Sea water</u>			
Tokio bay	< 500	27	Ogura, 1974
Georgia coastal waters	< 1000	12	Wheeler, 1976
Sea water	< 400	10	Degens, 1968
Ucha reservoir (USSR)	< 400	10	Brger, 1968
Ucha reservoir (USSR)	< 300	8	Mirkina, 1977
Black sea	< 1500	69	Mirkina, 1977
Surface film (Black sea)	< 200	38	Starikova & al, 1977

TABLE II : Comparizon between the total rate of utilization
(in %/hour) of some organic substrates estimated:

a) by the sum of incorporation rate (estimated from the slope of the incorporation curve in its linear part) plus respiration rate (estimated from the slope of the respiration curve in its linear part).

b) from the slope of the tangent of incorporation curve at initial time.

(see text for explanation).

STATION	SUBSTRATE	a			b
		INCORPORATION	RESPIRATION	TOTAL UTILIZATION	TOTAL UPTAKE
Ostende 18.7.77	Glycollate	.096	1.03	1.13	1.12
Hansweert 19.7.77	Glycollate	.32	1.8	2.12	2.0
Hansweert 21.10.77	Glucose	1.23	4.6	5.83	4.6
Ostende 18.7.77	Acetate	2.81	1.75	4.56	4.85
Hansweert 21.10.77	Acetate	2.1	7.9	10.0	5.07
Ostende 18.7.77	Lactate	0.68	0.92	1.60	1.63

TABLE III : mean value and range observed for the ratio of incorporation rate to total utilization rate (growth yield) of various organic substrates.

SUBSTRATE	MEAN	RANGE	NUMBER OF DETERMINATION
Amino acids (1)	.32	.16-.50	17
Glycollate	.15	.05-.25	8
Glucose	.35	.20-.50	7
Acetate	.41	.20-.60	12
Lactate	.38	.15-.60	7

(1) measured with Alanine, Aspartate and Lysine.

TABLE IVa : Concentration of organic substrates in the water
of the three station under study (in $\mu\text{mole/l}$)

HANSWEERT

	Ala.	Asp.	Lys.	Glyc.	Gluc.	Acet.	Lact.
19.7.77	0.084	0.033	0.021	2.0	—	0.2	0.2
21.10.77	0.042	0.013	0.014	—	0.06	0.2	0.2
7.4.78	0.044	0.024	0.010	4.5	0.08	1.5	—
21.4.78	0.020	0.015	0.010	4.5	0.08	3.3	—
19.5.78	0.054	0.010	0.010		0.05	0.2	—

OSTENDE

18.7.77	0.050	0.019	0.036	1.8	—	—	1.6
18.10.77	0.021	0.031	0.030	—	—	0.2	4.9
5.4.78	0.015	0.028	0.010	3.0	0.02	2.4	
19.4.78	0.010	0.020	0.010	3.1	0.02	1.3	
16.5.78 12h	0.049	0.019	0.015		0.05	0.2	0.2
24h							0.2
11.7.78					0.04		

CALAIS

26.7.77	0.141	0.065	0.028	0.9			
19.10.77	0.176	0.100	0.034	—	0.04	4.0	
4.4.78	0.036	0.020	0.031	2.3	0.01	0.2	
18.4.78 12h	0.036	0.010	0.010	2.3	0.005	0.2	
24h	0.010	0.015	0.020		0.005		
17.5.78	0.015	0.012	0.020		0.01	0.2	1.6
12.7.78							0.6

	Asp	Thr	Ser	GluNH ₂	Pro	Gly	Ala	Val	Cys	Met	Isolev	Lev	Tyr	Phe	Lys	His	TOTAL
<u>Hansweert</u>																	
19.07.77	.033	.040	.240	.036	.052	.243	.084	.030	<.010	<.010	.015	.018	.022	.014	.021	.013	.881
21.10.77	.013	.079	.080	.030	.034	.133	.042	.030	<.010	<.010	.020	.022	.014	.010	.014	.015	.536
07.04.78	.024	.012	.124	<.010	<.010	.096	.044	.025	.013	<.010	.015	.018	<.010	<.010	.010	.010	.420
21.04.78	.015	.050	.070	.022	.014	.062	.020	.015	.010	.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	.300
19.05.78	.010	.020	.017	.010	.010	.052	.054	.010	.010	.010	.010	.012	.015	.015	.010	.010	.275
<u>Ostende</u>																	
18.07.77	.019	.020	.140	.060	.21	.060	.050	.020	<.010	<.010	.018	.012	.020	.020	.036	.029	.545
18.10.77	.031	.030	.123	.079	.029	.046	.021	.028	<.010	<.010	.020	.018	.020	.025	.030	.021	.540
05.04.78	.028	.015	.030	.010	.016	.160	.015	<.010	.010	<.010	<.010	.010	.010	.010	.010	.010	.330
19.04.78	.020	.016	.030	<.010	<.010	.160	.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	<.010	.230
16.05.78																	
12h	.019	.016	.090	.154	.041	.383	.049	.019	<.010	<.010	.010	.010	<.010	<.010	.015	.076	.922
<u>Calais</u>																	
26.07.77	.065	.066	.392	.030	.047	.350	.141	.048	<.010	<.010	.028	.034	.023	.014	.028	.028	1.314
19.10.77	.100	.084	.508	.085	.186	.426	.176	.024	<.010	<.010	.034	.044	.052	.040	.034	.030	1.843
04.04.78	.020	.052	.040	.030	<.010	.100	.036	<.010	<.010	<.010	.020	.024	.018	.015	.031	.032	.450
18.04.78																	
12h	.010	.025	.010	<.010	<.010	.030	.036	<.010	<.010	<.010	.025	.010	.012	.016	.010	.016	.300
23h	.015	.025	.010	<.010	<.010	.412	.010	<.010	<.010	<.010	.025	.020	.015	.010	.020	.024	.586
17.05.78																	
12h	.012	.010	.032	.010	.010	.213	.015	.010	<.010	<.010	.010	.010	.010	.010	.020	.010	.402
24h	.010	.010	.020	.010	.015	.015	.012	.010	<.010	<.010	.010	.010	.020	.013	.015	.013	.203

Table IVb : Amino Acids concentrations in the water of the three stations
under study (in $\mu\text{mole/l}$)

TABLE V : Relative rate of total utilization (incorporation plus respiration) of organic substrates (in %/hour)

<u>HANSWEERT</u>							
	ALA	ASP	LYS	GLYC.	GLUC.	ACET	LACT.
19.7.77	-	-	-	1.8 (o) 2 (+)	-	27 (o)	5.4(o)
21.10.77	4.9 (+)	5.1 (+)	7.6 (+)	0 (o)	5.8 (o) 4.6 (+)	10 (o) 5.1(+)	.67(+)
7.4.78 10h	2.3 (&)	1.2 (+)	3.2 (+)	1.6 (+)	3.1 (&)	5.1(+)	.85(+)
21.4.78 10h	4.1 (&)	4.4 (+)	3.6 (+)	3.0 (&)	2.7 (&)	10.2(+)	1.3(&)
19.5.78 10h	7.2 (&)	0 (+)	0 (+)	2.0 (&)	6.5 (+)	11.8(&)	1.5(&)
in	4.6	2.7	3.6	1.7	4.4	12.3	1.9
<u>OSTENDE</u>							
18.7.77				1.1(+)(o)	-	4.56(o) 4.85(+)	1.60(o) 1.63(+)
7.8.10.77	0 (+)	.39(+)	0 (+)	.44(+)	.46(+)	0 (+)	0 (+)
18.10.77	0 (+)	.93(&)	1.8 (&)	0 (+)	1.7 (&)	.24(&)	.24(&)
5.4.78	.75 (+)	.72(&)	3.3 (+)	.18(+)	1.1 (+)	.15(+)	.11(+)
2.19.4.78	-	-	-	-	-	-	.20(+)
19.4.78	5.0 (+)	5.7 (+)	.65(&)	.20(&)	1.3 (&)	.17(&)	.03(&)
16.5.78 12h	1.9 (&)	3.9 (&)	7.1 (&)	0 (+)	12.3 (+)	1.7 (&)	4.8 (&)
24h	-	-	-	-	-	-	-
11.7.78	0. (+)	0 (+)	.26(+)	0 (+)	0 (+)	.04(+)	0 (+)
in	1.2	1.5	2.2	.27	2.8	1.0	.87
<u>CALAIS</u>							
26.7.77	-	-	-	0 (+)	-	.07(+)	.05(o)
9.10.10.77	2.4 (&)	.62(+)	1.5 (&)	.46(+)	.21(+)	.16(+)	.13(&)
19.10.77	0	0 (+)	.22(&)	0 (+)	0 (+)	.04(+)	.04(&)
4.4.78	.44 (&)	0 (+)	1.1 (+)	0 (+)	.83(&)	.07(+)	.01(&)
3-18.4.78	.50 (&)	-	-	-	-	-	.05(&)
18.4.78 12h	0 (+)	0 (+)	.19(&)	0. (+)	0 (+)	0 (+)	.01(&)
24h	.12 (+)	0 (+)	.56(+)	0 (+)	0 (+)	.10(+)	.03(&)
17.5.78	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)
12.7.78	0 (+)	-	4.8 (&)	0 (+)	.49(&)	-	.03(&)
in	.43	.10	1.2	.06	.22	.06	.04

(o) sum of incorporation and respiration measured separately

(+) total uptake estimated from the slope of the tangent to the incorporation curve at initial time

(&) total utilization estimated from the value of incorporation and the mean ratio incorporation/total utilization of table III.

REFERENCES

- ANDREWS, P & WILLIAMS, P.S.leB, 1971.- Heterotrophic utilization of dissolved organic compounds in the sea.
III. Measurement of the oxidation rate and concentration of glucose and amino acids in sea water.
J.Mar.Biol.Ass.U.K. 51, 11-125.
- BOEHRINGER-MANHEIM, 1977. Methods of Enzymatic Food Analysis.
Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica.
- CALKINS V.P., 1943.- Microdetermination of Glycolic and oxalic acids. Ind.Eng.Chem. 15, 762-763.
- CHAU Y.K. & RILEY, J.P., 1966.- The determination of amino-acids in sea water. Deep-sea Res. 13, 1115-1124.
- CLARK , 1971
- DAWSON R. and GOCKE, K., 1978.- Heterotrophic activity in comparison to the free amino acid concentrations in Baltic sea water samples. Oceanologica Acta 1, 45-54.
- DEGENS E.T. REUTER, J.H. and SHAW K.N.F., 1964.- Biochemical compounds in offshore California sediments and sea water. Geochim. Cosmochim. Acta 28, 45-66.
- FORREST, W.W, 1969.- Energetic aspects of microbial growth. In Microbial growth, 19th Symp. Soc.Gen.Microbial pp 65-86. Cambridge University Press.
- FOGG 1962.- Extracellular products. In physiology and Biochemistry of algae. Lewin R.A.(ed) pp 475-489. Acad.P.4
- GOCKE, K, 1975.- Studies on short-term variations of heterotrophic Activity in the Kiel Fjord. Mar.Biol. 33, 49-55.

- HELLEBUST, J.A., 1974.- Extracellular products. In Algal physiology and biochemistry. Stewart W.D.P. (ed) pp 838-863 Blackwell scientific publications.
- HOBBIE J.E., CRAWFORD C.C., WEBB K.L. 1968.- Amino acid flux in an estuary. Science 159, 1463-1464.
- HOBBIE J.E. & WRIGHT, R.T. 1965.- Competition between planktonic bacteria and algae for organic solutes pp 175-185 In C.R. Goldman (ed.) Primary productivity in Aquatic Environments. Mem. Ist. Ital. Idrobiol., 18 Suppl. Univ. California Press, Berkeley.
- HOBBIE J.E. & CRAWFORD C.C., 1969.- Limnol Oceanogr. 14, 528-
- JAUNASCH H.W., 1967.- Growth of marine bacteria at limiting concentrations of organic carbon in sea water. Limnol. Oceanogr. 12, 264-271.
- JAUNASCH H.W. 1968. - Growth characteristics of heterotrophic bacteria in sea water. J. Bact. 95, 722-723.
- JOIRIS, C. 1973.- Evolution des populations bactériennes planctoniques dans le Bassin de Chasse d'Ostende (Belgique) en 1971 et 1972. Hydrobiol. Bull. 7, 54-59.
- JOIRIS, C., 1977.- On the role of heterotrophic bacteria in marine ecosystems : Some problems. Helgoländer.wiss. Meeresunters. 30, 611-621.
- JOSEFSON, 1970.- Determination of soluble carbohydrates in sea water by partition chromatography after desalting by ion-exchange membrane electrodialysis. Anal. Chim. Acta 52, 65-73.
- KOYAMA, T & THOMSON, T.G., 1959.- Organic acids in sea water. In Preprints Int. Oceanogr. Congr. 825-926.
- MIRKINA S.D. 1977.- Separation and biological characteristics of dissolved organic matter of natural waters. Oceanology 17, 412-417.

- OGURA, N. 1974.- Molecular weight fractionation of dissolved organic matter in coastal seawater by ultrafiltration. *Mar. Biol.* 24, 305-312.
- ROGERS, H.J. 1961.- The dissimilation of high molecular weight organic compounds.
In The Bacteria, GUNSALUS & STANIER (ed.) Vol. II.
- SEPERS, A.B.S., 1977.- The utilization of dissolved organic compounds in aquatic environments. *Hydrobiol.* 52, 39-54.
- SHAH N.M. & FOGG G.E., 1973.- The determination of Glycollic acid in sea water. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 53, 321-324.
- SHAH N.M. & WRIGHT R.T., 1974.- The occurrence of Glycollic acid in coastal sea water. *Mar. Biol.* 24, 121-124.
- STANLEY P.M. & STALEY J.T., 1977.- Acetate uptake by aquatic bacterial communities measured by autoradiography and filterable radioactivity. *Limnol. Oceanogr.* 22, 26-37.
- SHARP J.H., 1973.- Size classes of organic carbon in sea water. *Limnol. Oceanogr.* 18, 441-447.
- STARIKOVA N.D., YABLOKOVA O.G. & KORZHIKOVA, L.I., 1977.- Determining the molecular composition of dissolved organic matter by gel filtration. *Oceanology* 16, 571-575.
- SIEGEL, A. & DEGENS E.T. 1966.- Concentration of dissolved amino acids from saline waters by ligand exchange chromatography. *Science* 151, 1098-1101.
- STANIER R.Y. DOUDOROFF M. & ADELBERG E.A. 1970.- General Microbiology. 3rd Edition. Macmillan Press Ltd.
- WHEELER J.R., 1976.- Fractionation by molecular weight of organic substances in Georgia coastal water. *Limnol. & Oceanogr.* 21, 846-852.

WILLIAMS P.J. leB, 1970.- Heterotrophic utilization of dissolved organic compounds in the sea

I. Size distribution of population and relationship between respiration and incorporation of growth substrates. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 50, 859-870.

WILLIAMS P.J. leB & GRAY, 1970.- Heterotrophic utilization of dissolved organic compounds in the sea. II. Observations in the responses of heterotrophic marine populations to abrupt increases in amino acid concentration. J.Mar.Biol.Ass.U.K. 50, 871-881.

WILLIAMS P.J. leB, BERMAN T., HOLM-HANSEN O., 1976.- Amino acid uptake and respiration by marine heterotrophs. Mar.Biol. 35, 41-47.

WILLIAMS P.J. leB, 1975.- Aspects of dissolved organic material in sea water. In Chemical Oceanography. Riley J.P. & Skirroco G. (ed.) Chapter 12, pp 301-363. Academic Press.

WRIGHT R.T. & SHAH N.M., 1975.- The trophic role of glycolic acid in coastal sea water. I. Heterotrophic metabolism in sea water and bacterial cultures. Mar.Biol. 33, 175-183.

Figure 1. Position of the stations visited and sampled in the present study.

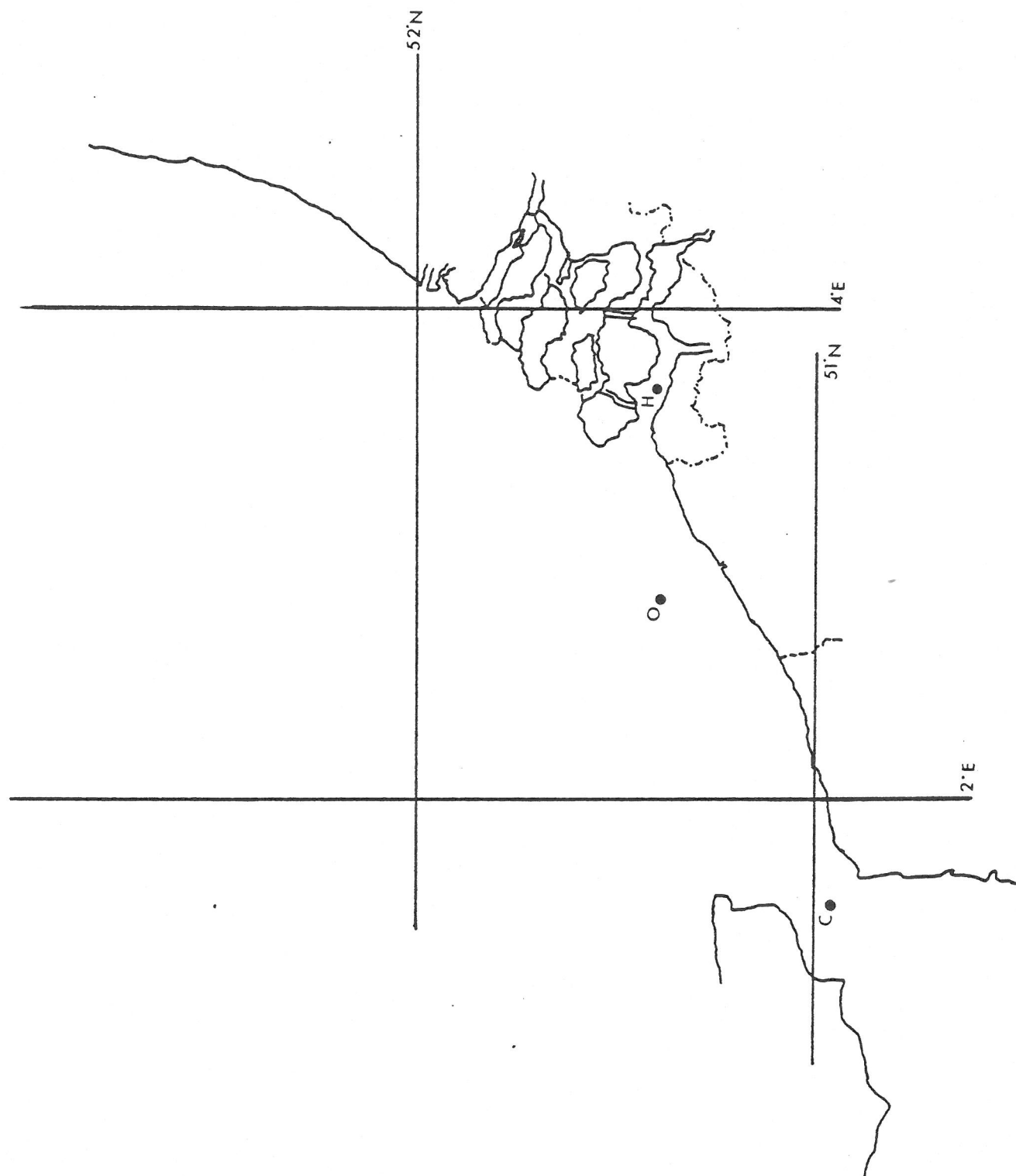
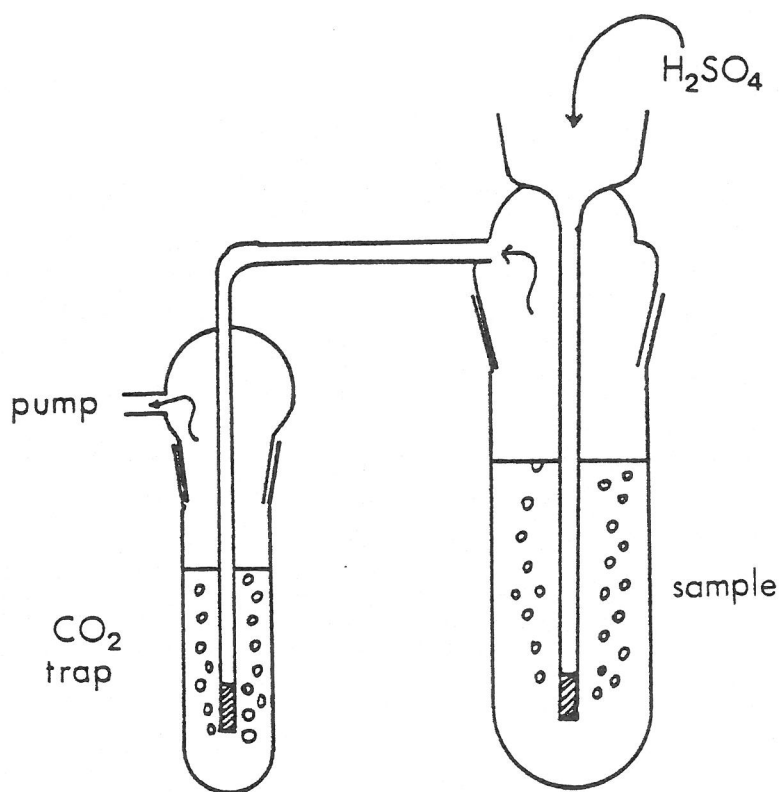


Figure 2. Device for trapping the CO_2 produced by respiration of labelled substrates before radioactive counting.



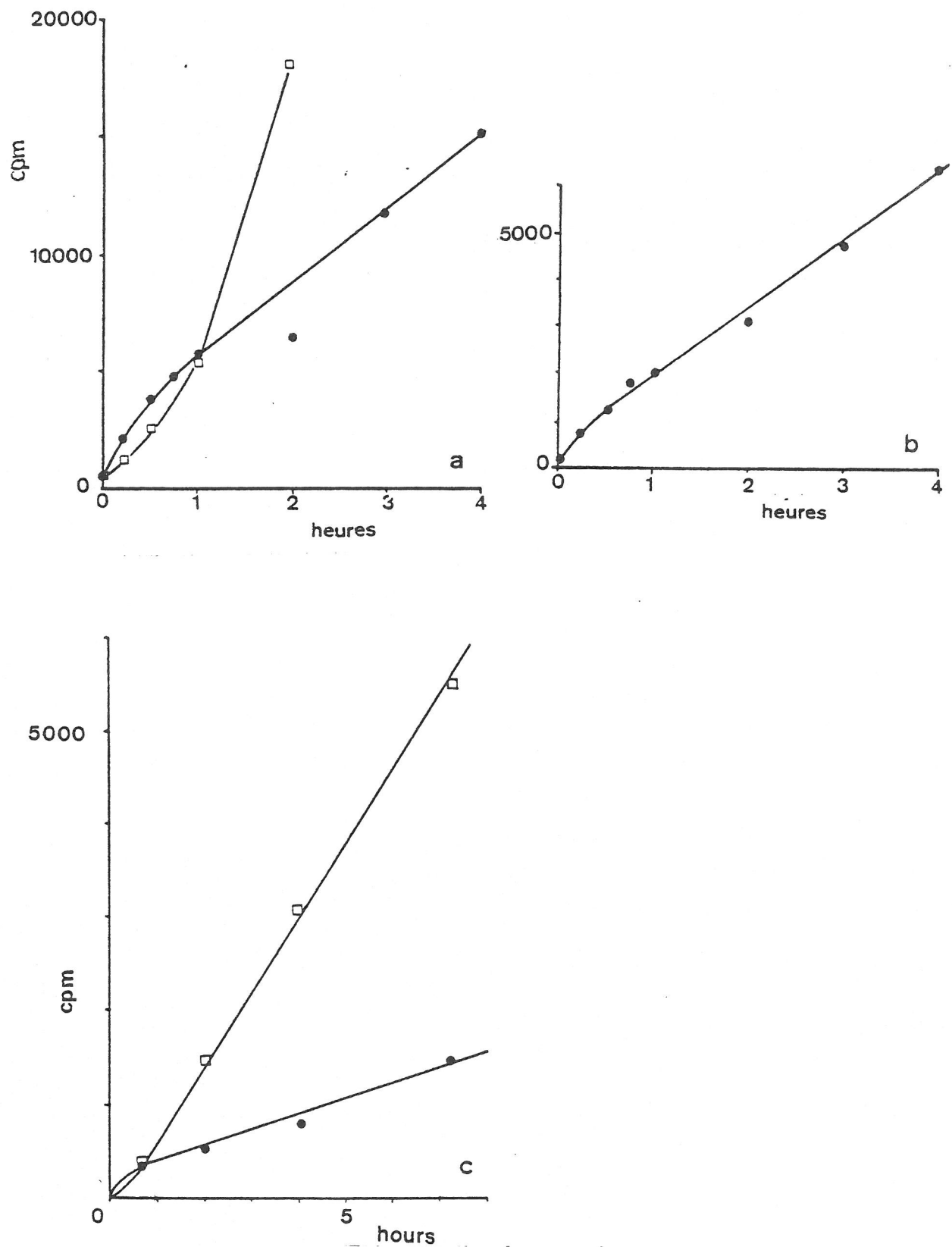


Figure 3. Examples of measurements of incorporation and respiration of labelled substrates. a. Incorporation (●) and respiration (□) of acetate by a sample of Scheldt water (Hansweert, oct. 1977). b. Incorporation of lactate by sample of Scheldt water (Hansweert, octobre 1977). c. Incorporation (●) and respiration (□) of glycollate by a sample of Scheldt water (Givillet 1977).

Figure 4: Schematic representation of the model of bacterial utilization of directly usable substrates developed in the text.

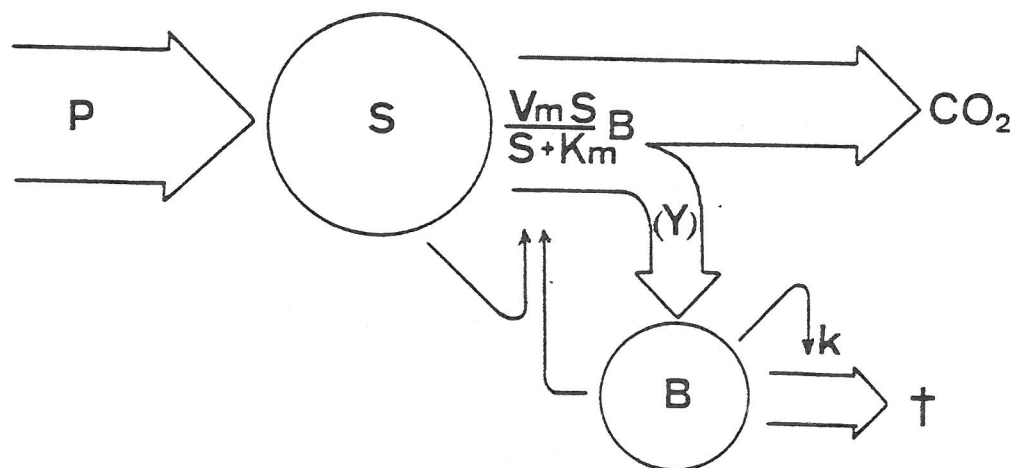


Figure 5. Evolution of bacterial density and substrate concentration after a sudden increase of the rate of production of the substrate.

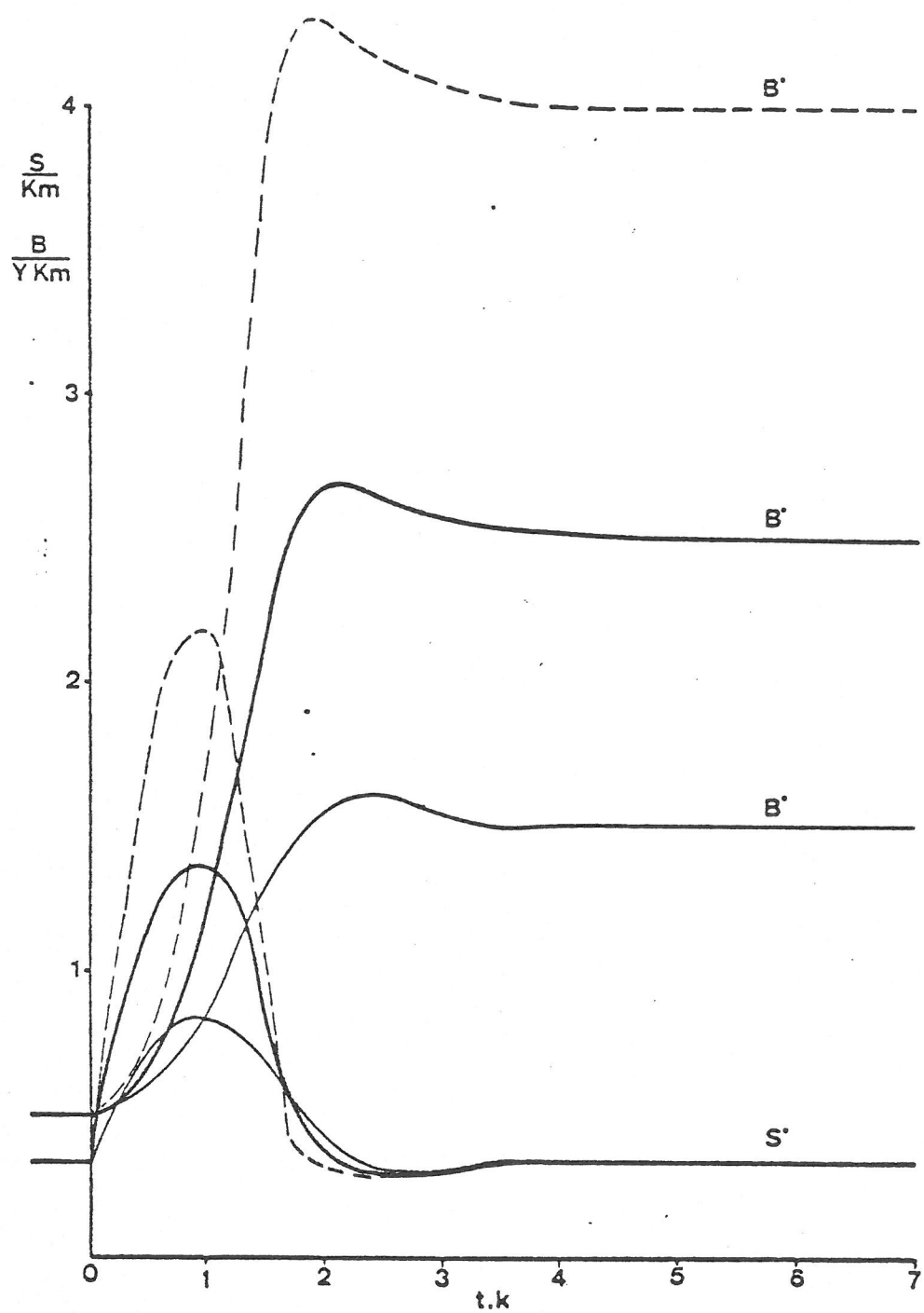


Figure 6.a. Evolution of bacterial density and substrate concentration after a sudden increase of substrate concentration.

b. Relation between the maximum bacterial density reached and the initial increase of substrate concentration.

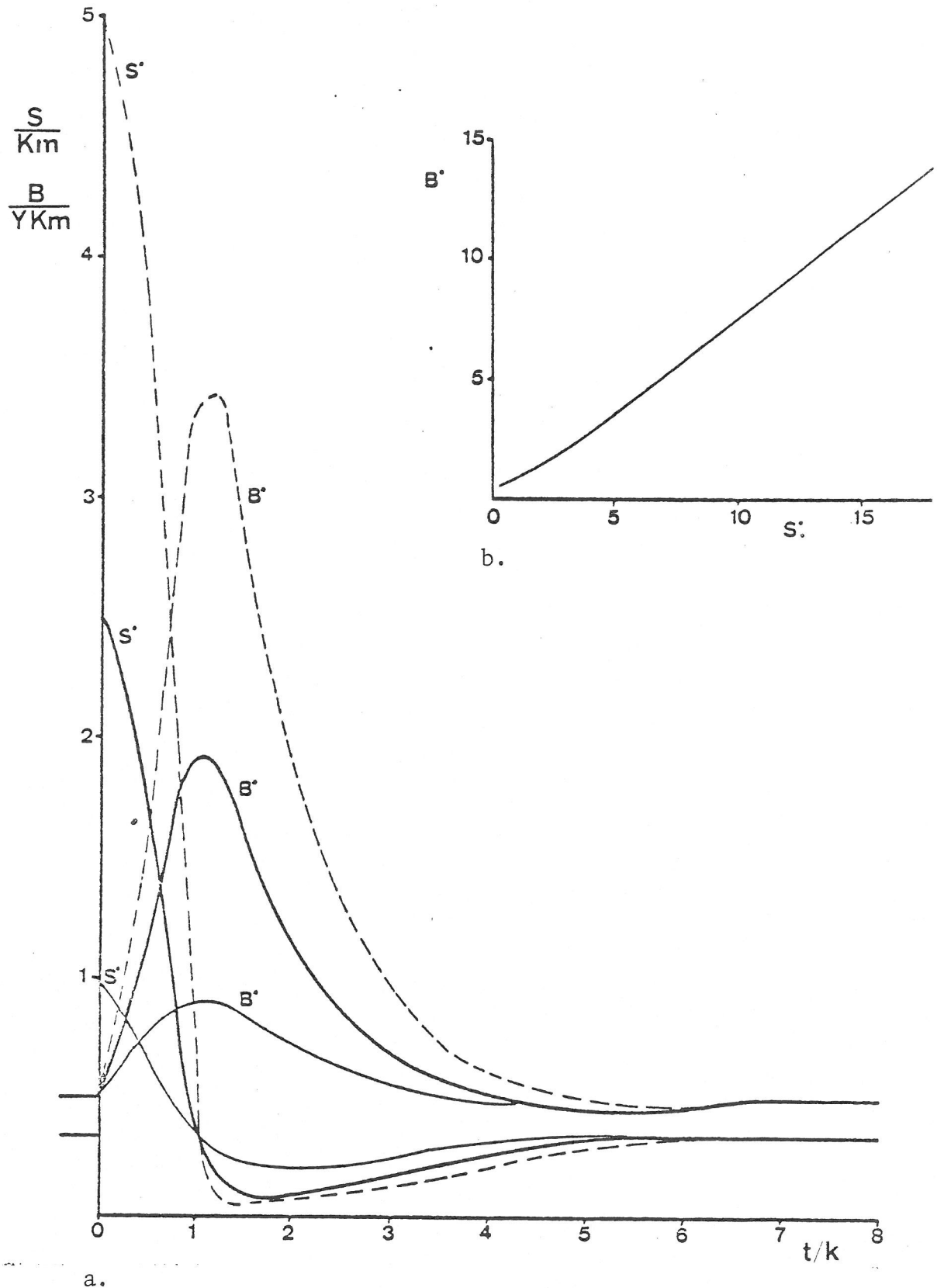
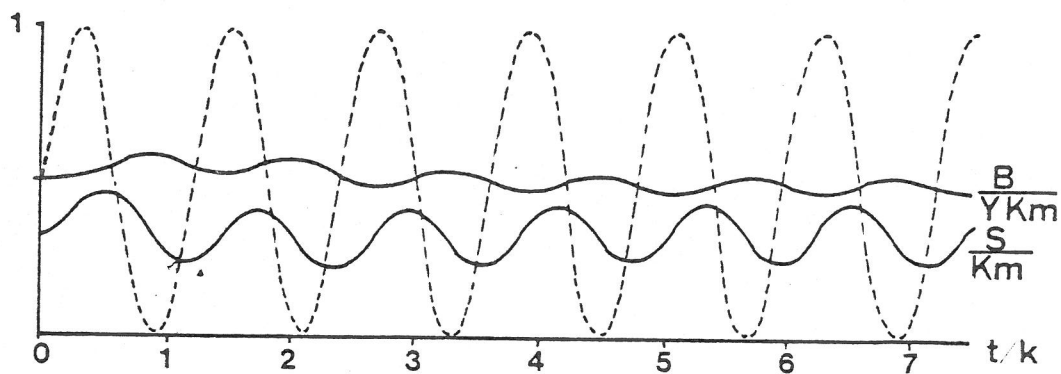
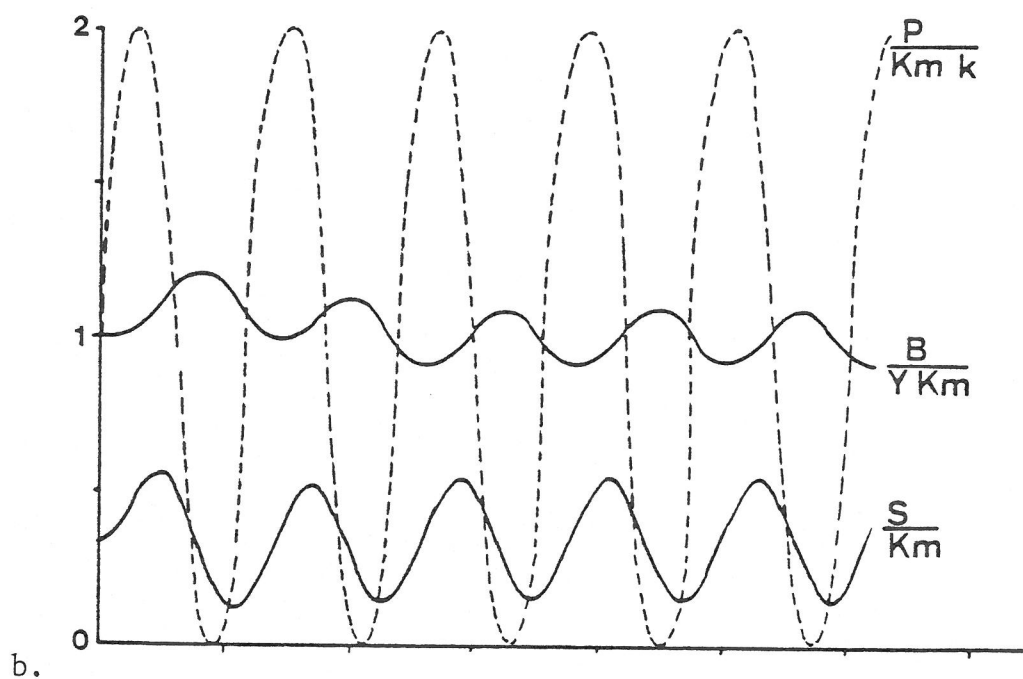


Figure 7. Evolution of bacterial density and substrate concentration when the production rate of the substrate varies sinusoidally with a period of one day.

a. Mean turnover rate of the substrate: $6 \% h^{-1}$

b. Mean turnover rate of the substrate: $12 \% h^{-1}$



a.

ACTIONS CONCERTÉES EN OcéANOGRAPHIE
RAPPORT D'ACTIVITÉ
1978

ANNEXE N° 12

Distribution of microbial metabolisms in natural environments
displaying gradients of oxydo-reduction conditions

Colloque International CNRS
 Biogéochimie de la Matière Organique
 à l'Interface eau-sédiment marin.
 Marseille 25-27 avril 1979.

*Distribution of microbial metabolisms in natural
 environments displaying gradients of oxidation-
 reduction conditions.*

55487

Gilles BILLEN and Suzanne VERBEUSTEL, Lab. d'Océa-
 nographie, University of Brussels,
 50, av. F.-D. Roosevelt 1050 Brussels (Belgium).

Résumé : Distribution des métabolismes microbiens dans les milieux
 naturels présentant un gradient de conditions d'oxydo-réduction.

Du point de vue de l'écologie bactérienne, la présence d'un gradient de conditions d'oxydo-réduction dans les couches supérieures des sédiments marins constitue l'une des caractéristiques principales de cet habitat. Le potentiel d'oxydo-réduction peut être considéré à la fois comme le résultat de l'activité microbiologique, et comme un facteur déterminant quel type de métabolisme microbien se déroule dans un milieu donné. Ces deux points de vue sont adoptés successivement pour illustrer, par des exemples concrets choisis dans les sédiments marins et dans l'estuaire de l'Escaut, une théorie générale de la relation entre métabolisme bactérien et potentiel d'oxydo-réduction du milieu.

I. INTRODUCTION.

The knowledge of the microbial metabolisms occurring in the upper layers of marine sediments is of prime importance for the understanding of the fate of organic material at the water-sediment interface.

From the point of view of microbial ecology, the presence of a sharp gradient of oxidation-reduction conditions in the upper layers of the sediments is one of the most striking characteristics of this habitat. Other environments, however, also displays such redox gradients : heavily polluted rivers are an exemple. In this paper we will compare results obtained in marine sediments on the one hand and in the Scheldt estuary

on the other hand, concerning the distribution of microbial metabolisms in the redox gradients exhibited by this two environments, as an illustration of a general theory on the relation between microbial metabolisms and redox potential of the medium.

In order to clarify the discussion, the basic classification of non photosynthetic microbial metabolisms is summarized in Table I, from the point of view of redox transformations.

Table I.:

(chemo)organotrophic (or heterotrophic) metabolisms	(chemo)lithotrophic metabolisms
<u>(organic)respiration:</u> exoenergetic oxidation of a reduced substrate, S red $\text{S red} + \text{Ox} \rightarrow \text{Sox} + \text{Red};$ S red = organic	<u>(mineral)respiration :</u> S red = mineral eg : Mn^{++} ; manganioxidation NH_4^+ , NO_2^- ; nitrification Fe^{++} ; ferrooxidation HS^- ; sulfooxidation CH_4 ; methaneoxidation H_2 ; hydrogen oxidation
at the expense of a mineral oxidant taken up from the external medium : eg : O_2 : aerobic respiration MnO_2 : manganireduction) NO_3^- : denitrification) Fe(OH)_3 : ferroreduction) anaerobic SO_4^{--} : sulfatoreduction) respirations	
CO_2 : methane production	
<u>Fermentations :</u> exoenergetic rearrangement of an organic substrate without intervention of an external oxidant(1) $\text{S red} \rightarrow \text{S' red}$	-

(1) Excepted when molecular hydrogen is produced during the fermentation. This case present some, more than formal, analogy with respiratory metabolisms, of which it could represent a primitive form(Cray and Gest, 1965).

The concept and measurement of redox potential in natural environments have been discussed by several authors (Baas Becking et al, 1960; Stumm, 1966; Thorstenson, 1970; Billen, 1976). It has been stressed that a redox potential can be univocally defined in natural medium because an internal thermodynamic equilibrium is not far from being reached within the subsystem formed by the main mineral redox couples susceptible to be used in energy yielding metabolisms of microorganisms.

So defined, the value of the redox potential can be viewed either as the result of microbial activity, as far as respiratory metabolisms consume oxidants from the medium, or as a factor determining which kind of microbial metabolisms can occur.

These two points of view will be successively adopted in the following presentation.

II. Bacterial activity as the cause of redox gradients in sediments and in rivers.

When the sum of all respiratory metabolisms in a given medium - expressed as a rate of oxidant consumption - is higher than the rate of import of oxidant to this medium, the redox potential decreases. The process resembles a redox titration of the oxidants of the medium by the organic matter initially present, conducted at the rate of overall respiratory activity. The opposite occurs when the rate of oxidants import exceeds the rate of respirations.

This idea has been applied for relating total heterotrophic activity, its geographical and seasonal variations, to redox profiles in marine sediments (Wollast & Billen, unpublished) and in the Scheldt estuary (Billen et al, 1976). Using the assumption that an internal redox equilibrium exists for the mineral redox couples, the distribution of all redox species have been calculated by this model.

III. Redox conditions as determinant of bacterial metabolisms.

The free energy change associated with the oxidation of a particular reduced substrate by an oxidant depends on the availability of this oxidant, in the medium, ie on the Eh (Billen, 1976).

In the case of mineral substrates, this dependence determines a critical value of the Eh under which the oxidation of these substrates is not more exoenergetic, and thus the corresponding chemolithotrophic metabolisms are

impossible. This limitation will be illustrated by observations concerning the zones of occurrence of nitrification in marine sediments and in the Scheldt estuary.

In situ rate of nitrification as been determined by aid of dark C^{14} bicarbonate incorporation with and without addition of a specific inhibitor of nitrification (Billen, 1976; Somville, 1978).

In both environments, nitrification is shown only to occur above a certain Eh limit. Moreover, the predictable seasonal variations of the redox gradient results in variations in the distribution of the nitrifying activity.

Oxidation of organic compounds, on the other hand, is exoenergetic in the whole range of Eh encountered in natural media so that chemoorganotrophic metabolisms are always possible. Their energy yield, however, is lower at lower Eh. (This last point can be illustrated by data about the growth yield of heterotrophic bacteria obtained by measurement of incorporation and respiration of several organic substrates in various environments).

Fermentative metabolisms, having for only result a reorganization of the organic substrate, without modification of its gross redox level, are, from a thermodynamic point of view, quite insensitive to redox conditions. It is generally thought, however, that oxygen toxicity toward most fermentative bacteria, or competition between fermentative and respiratory metabolisms, result in the quasi-complete absence of fermentative metabolisms in aerobic conditions.

Data, collected both in marine sediments and in the Scheldt estuary, about concentration and rate of microbial utilization of fermentation products (lactate, acetate, ethanol ...), show that this is not necessarily true. For understanding the pathways of organic matter degradation in various oxidation-reduction conditions, these data can offer a promising approach.

IV. References :

- BAAS BECKING, LGM, KAPLAN, IR & MOORE, D, 1960 - Limits of the natural environment interm of pH and Eh. J. Geol. 68, 243-284.
- G. BILLEN - A method for evaluating nitrifying activity in sediments by dark C^{14} bicarbonate incorporation. Water Research. 10, 51-57 (1976).
- G. BILLEN - The dependance of the various kinds of microbial metabolisms on the redox state of the medium. Communication

présentée au SCOR/UNESCO workshop on the biogeochemistry of estuarine sediments. Melreux, 29 nov.-3 déc. 1976.

G.BILLEN, J. SMITZ, M. SOMVILLE & R. WOLLAST - Dégradation de la matière organique et processus d'oxydo-réduction dans l'estuaire de l'Escaut. Rapport de synthèse, projet "Mer". Vol. 10.

J.C. NIHOUL et R. WOLLAST, éd. pp. 102-152. (1976).

M. SOMVILLE, 1978 - A method for the measurement of nitrification rates in water. Water Research 12, 843-848.

W. STUMM, 1966 - Redox potential as an environmental parameter : conceptual significance and operational limitation. Proc. Int. Water Pollution Res. Conf. (3rd, Munich) 1, 283-308.

D.C. THORSTENSON, 1970 - Equilibrium distribution of small organic molecules in natural waters. Geochim.Cosmochim. Acta 34, 745-770.

ACTIONS CONCERTÉES EN OcéANOGRAPHIE
RAPPORT D'ACTIVITÉ
1978

ANNEXE N° 13

Distribution et utilisation du lactate et de l'acétate dans les
sédiments marins

DISTRIBUTION ET UTILISATION DU LACTATE ET DE L'ACETATE DANS LES
SEDIMENTS.

G. BILLEN
et S. VERBEUSTEL.

55482

INTRODUCTION

Dans le cadre d'une recherche à long terme visant à préciser les mécanismes de la dégradation de la matière organique dans les sédiments marins, nous avons effectué une série de mesures sur la distribution et l'utilisation microbiologique de deux importants produits de fermentation, le lactate et l'acétate, dans une série de carottes de sédiments provenant de la Mer du Nord (Southern Bight et Fladden Ground), du Bassin de Chasse d'Ostende et de l'estuaire de l'Escaut.

Le présent rapport fait la synthèse des résultats acquis jusqu'à présent.

METHODES

Lactate et acétate ont été dosés après extraction de l'eau interstitielle par des méthodes enzymatiques décrites en détail ailleurs (Billen & Putman, 1979).

La vitesse de respiration de ces deux substrats par les populations bactériennes de sédiments a été évaluée par addition de marqueurs radioactifs et mesure du CO₂ radioactif produit après un quart d'heure d'incubation.

RESULTATS

1. Dosage de lactate et de l'acétate dans l'eau interstitielle

La figure 1 présente à titre d'exemple un profil vertical complet de concentration en nitrates, sulfates, lactate et acétate dans l'eau interstitielle d'une carotte vaseuse du Bassin de Chasse d'Ostende.

Le tableau 1 montre la gamme des valeurs trouvée dans les autres carottes analysées.

TABLEAU 1 : Gamme des valeurs de concentration en lactate et acétate trouvées dans l'eau interstitielle de diverses carottes ($\mu\text{moles/l}$).

Origine	date	Acétate		Lactate	
		zone oxydée	zone réduite	zone oxydée	zone réduite
Fladden Ground 30a	13.05.76	48 - 90	15 - 115	41 - 81	3 - 54
"	22 02.05.76	22 - 35	3 - 29	8 - 88	8 - 29
"	70 23.05.76	7 - 54	1 - 30	37	5 - 28
Mer du Nord M1149	12.10.77	1	1 - 18	40	7 - 61
"	M01 11.08.75	4 - 26	32 - 53	33 - 38	8 - 38
"	ZB7 13.10.77	1 - 50	-	40 - 120	-
Bassin de chasse					
zone sableuse	8.01.75	1 - 89	1 - 38	48 - 81	60 - 149
"	20.12.77	5 - 36	5 - 45	92 - 150	52 - 88
zone vaseuse	6.02.79	12 - 14	9 - 39	105 - 176	12 - 90
Escaut E18	octobre 1978	21	17 - 108	83	7.5-78
E22	octobre 1978	75	1 - 100	-	1 - 129
E31	octobre 1978	9 - 51	20 - 54	19 - 68	21 - 69

2. Détermination du k_m pour l'acétate et le lactate.

Une suspension de sédiment provenant de la zone vaseuse du Bassin de Chasse d'Ostende, dans de l'eau de mer, a été incubée pendant 4 jours dans diverses conditions d'oxydoréduction (aérobiose, anaérobiose avec addition de nitrates, anaérobiose sans nitrates). Les vitesses relatives d'utilisation du lactate et de l'acétate, avec divers ajouts de substrats ont alors été mesurées. Les figures 2 et 3 montrent les résultats obtenus en coordonnées inverses $1/v$ relative - S_a (concentration ajoutée en substrat). Cette représentation permet la détermination du K_m de la population bactérienne vis-à-vis du substrat : en effet, si

$$v = \frac{V_{\max} S}{S + K_m}$$

alors $\frac{s}{v} = \frac{S + K_m}{V_{\max}}$

ou $\frac{1}{v_r} = \frac{S_n + K_m}{V_{\max}} + \frac{S_a}{V_{\max}}$

(où S_n est la concentration naturelle en substrat)

Dans la représentation choisie, le coefficient angulaire de la droite obtenue est $\frac{1}{V_{\max}}$, tandis que l'abscisse à l'origine vaut $S_n + K_m$. Il suffit alors de connaître S_n pour calculer le K_m .

Les résultats ainsi obtenus sont résumés dans le tableau II :

TABEAU II : Valeurs du K_m pour l'acétate et le lactate des populations bactériennes des sédiments du Bassin de chasse d'Ostende dans diverses conditions d'oxydoréduction.

	Eh (mV)	Km Acétate (μ moles/l)	Km Lactate (μ moles/l)
Aérobiose	360 mV	65	61
Anaérobiose + NO_3^-	140	36	-
Anaérobiose sans NO_3^- avec $\text{SO}_4^{=}$	10	78 - 85	60
Anaérobiose sans $\text{SO}_4^{=}$	-50	7.5-16	60

3. Profil vertical des vitesses d'utilisation du lactate et de l'acétate dans les sédiments.

Les vitesses relatives de respiration du lactate et de l'acétate ont été mesurées dans des conditions proches des conditions naturelles sur des échantillons prélevés à diverses profondeurs d'une carotte de sédiments de la zone vaseuse du Bassin de Chasse d'Ostende. Les résultats sont repris dans le tableau III. Les concentrations en substrats dans le même sédiment sont celles représentées dans la figure 1.

TABLEAU III : Respiration du lactate et de l'acétate dans les sédiments vaseux du Bassin de Chasse d'Ostende (B 6.279; temp. 3°C).

Profondeur (cm)	Eh (mV)	Acétate				Lactate			
		$V_{rel}^{(1)}$ (h^{-1})	$S^{(2)}$ ($\mu moles/l$)	$V_{abs}^{(3)}$ ($\mu moles/lh$)	$V_{max}^{(4)}$ ($\mu moles/lh$)	$V_{rel}^{(1)}$ (h^{-1})	$S^{(2)}$ ($\mu moles/l$)	$V_{abs}^{(3)}$ ($\mu moles/lh$)	$V_{max}^{(4)}$ ($\mu moles/lh$)
0 - 2	385→185	1.04	12.5	13	59	4	140	560	800
2 - 5	186→ 60	0.48	35	17	34	2	55	110	230
7 -10	55→ 30	0.20	15.5	3.1	19	1.05	55	91	190
12 -15	10→ 0	0.02	11	0.20	1.8	0.07	32	2.2	6.5

(1) V_{rel} : vitesse relative de respiration

(2) S : concentration naturelle en substrat

(3) V_{abs} : vitesse absolue de respiration = $V_{\text{rel}} \times S$

$$(4) \quad V_{\max} : \text{vitesse maximale de respiration} = V_{\text{rel}} \times (S + K_m)$$

DISCUSSION

1. Comparaison sédiments-eau de surface.

La comparaison des données présentées ici avec des données similaires relatives au milieu pélagique permettent de mettre en évidence certaines caractéristiques propres du milieu constitué par les sédiments marins.

Cette comparaison est résumée dans le tableau IV.

	Eau interstitielle des sédiments (ref)	Eau de surface (ref)
<u>Acétate</u>		
gamme de conc($\mu\text{moles/l}$)	10 - 100 (ce travail)	0 - 5 (Billen et al, 1979)
Km ($\mu\text{moles/l}$)	10 - 100 (" ")	.1 - 10 (Koyama et al, 1977)
		.1 - 5 (Seepers, 1977)
V _{rel} utilisation ($\%h^{-1}$)	10 - 100 (" ")	.01- 10 (Billen et al, 1979)
<u>Lactate</u>		
gamme de conc($\mu\text{moles/l}$)	10 - 200 (" ")	0 - 5 (Billen et al, 1979)
Km ($\mu\text{moles/l}$)	60 (" ")	-
V _{rel} utilisation ($\%h^{-1}$)	10 - 500	.01- 5 (Billen et al, 1979)
<u>Ac.Aminés Individuels</u>		
Gamme de conc($\mu\text{moles/l}$)	3 - 5 (Esteves,76)	0 - 0.2 (Billen et al, 1979)
	2 - 20 (Degens et al, 1964)	
Km ($\mu\text{moles/l}$)	-	0.03- 1 (Seepers, 1977)
V _{rel} utilisation ($\%h^{-1}$)	-	.1 - 5 (Billen et al, 1979)

Billen et al (1979) ont présenté un modèle qui montre que la concentration stationnaire d'un substrat directement utilisable par l'activité bactérienne est indépendante de la vitesse de production de ce substrat, donc de l'intensité de cette activité, mais dépend uniquement des paramètres physiologiques des populations bactériennes vis-à-vis du substrat :

Ainsi à l'état stationnaire :

$$S = \frac{K_m}{\frac{V_{max} Y}{k} - 1}$$

où Y est le rendement de croissance sur le substrat
k est la constante de mortalité

Les données du tableau IV ne sont pas en contradiction avec ce modèle, puisque les gammes de concentrations observées coïncident, dans les deux milieux, à la gamme des K_m . Toutefois, le milieu constitué par les sédiments, où les vitesses de production de petits substrats organiques sont beaucoup plus élevées, se caractérise par des valeurs également plus élevées des K_m d'utilisation, et donc par des concentrations stationnaires plus élevées de ces substrats, que dans la phase pélagique.

2. Variations en fonction de la profondeur.

Le tableau III montre très clairement une décroissance générale de la vitesse d'utilisation des substrats en fonction de la profondeur.

Ces données confirment l'idée que l'essentiel de l'activité micro-biologique se déroule dans les dix premiers centimètres de sédiments.

3. Structure des réseaux métaboliques.

L'effet du Eh sur le K_m ou sur la concentration de lactate ou d'acétate dans les sédiments ne semble pas très marqué.

Il n'apparaît pas davantage dans nos données sur la respiration de ces deux substrats.

La comparaison des données sur la respiration du lactate et de l'acétate montre qu'une part importante (>90 %) du lactate est consommé sans production d'acétate et n'est donc pas le fait des bactéries sulfatoréductrices.

Figure 1. Concentration en Nitrate (a), Sulfate (b), acetate (c) et lactate (d) dans l'eau interstitielle d'une carotte vaseuse du Bassin de Chasse d'Ostende (B 6/2/79).

7.

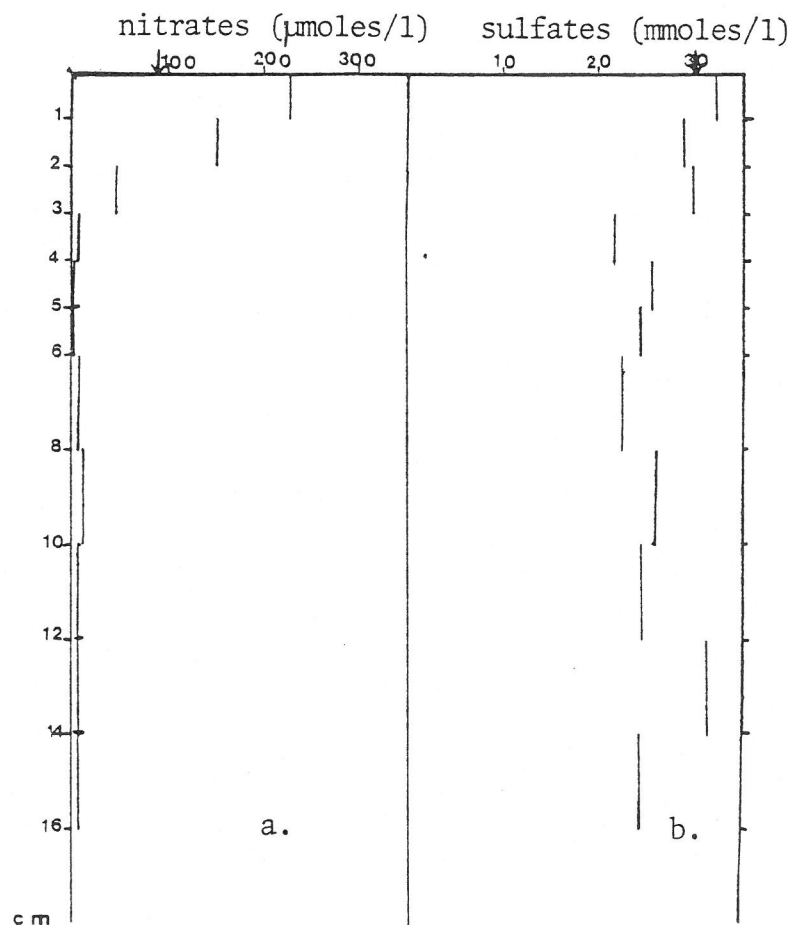
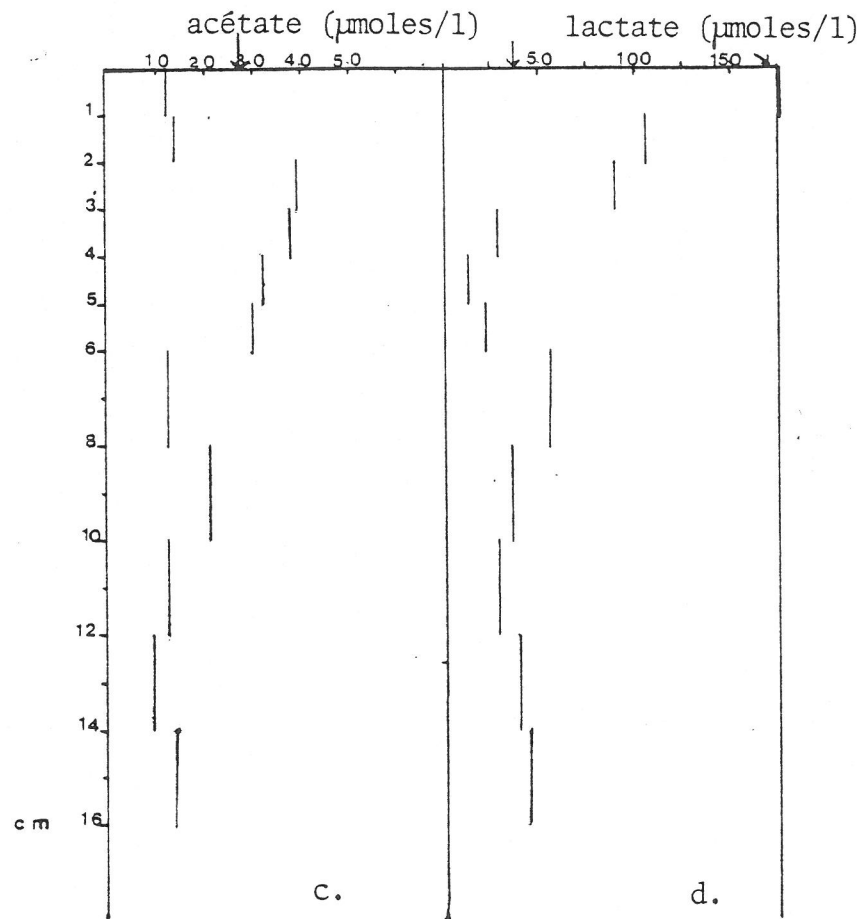


Figure 2. Détermination du K_m pour l'acétate des populations bactériennes d'une suspension de sédiments du Bassin de Chasse d'Ostende en conditions d'aérobiose (■), d'anaérobiose avec nitrates (▲) et d'anaérobiose avec sulfates (●).

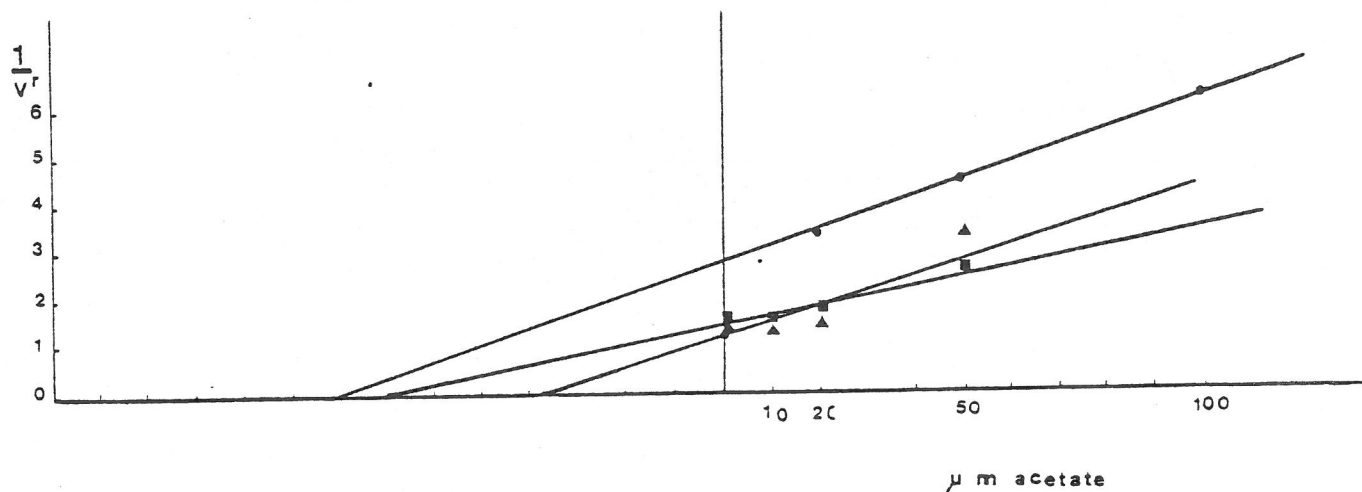
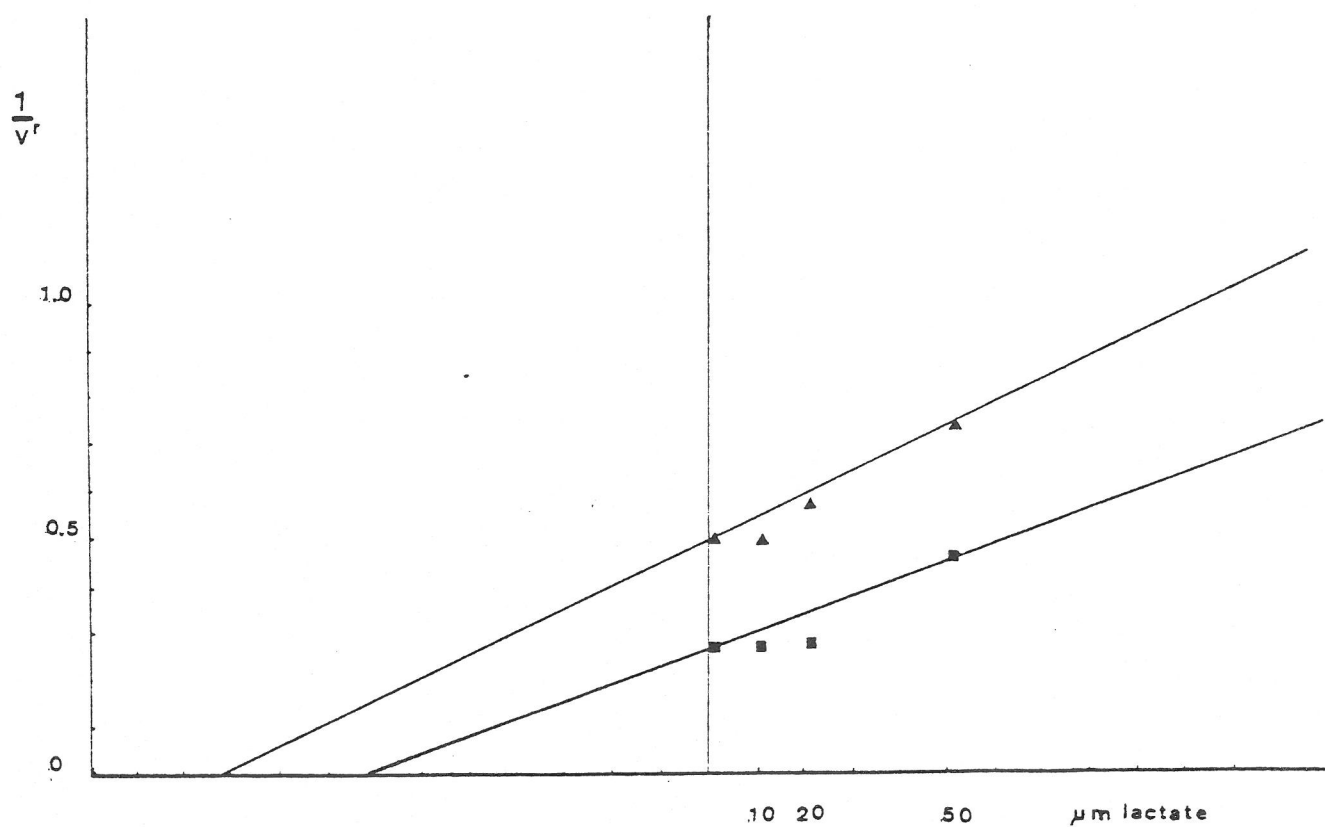


Figure 3. Détermination du K_m pour le lactate des populations bactériennes d'une suspension de sédiments du Bassin de Chasse d'Ostende en conditions d'aérobiose (■) et d'anaérobiose avec sulfates (▲).



ACTIONS CONCERTÉES EN OcéANOGRAPHIE
RAPPORT D'ACTIVITÉ
1978

ANNEXE N° 14

Calcite-sea water reactions and CO₂ storage in ocean surface waters

CALCITE-SEAWATER REACTIONS AND CO₂ STORAGE
IN OCEAN SURFACE WATERS

55483

R. Wollast
Oceanography Laboratory
University of Brussels
Brussels, Belgium

R. M. Garrels
F. T. Mackenzie
Department of Geological Sciences
Northwestern University
Evanston, Illinois 60201

Submitted to American Journal of Science

December, 1978

Abstract

The behavior of calcite in typical mixed-layer seawater (Bermuda seawater) supersaturated with respect to calcite and aragonite was investigated using saturometry techniques. Additions of reagent-grade calcite to this seawater produce a surface film on the calcite that is more soluble than calcite. The observed increase in solubility of the film, expressed as $-\log \text{IAP}_{\text{CaCO}_3}$ (IAP = Ion Activity Product), varies directly with increase in thickness, and probably Mg content, of the precipitated carbonate. Dissolution of these precipitates in seawaters undersaturated with them was rapid.

We suggest from the results of these experiments that suspended calcite in the ocean mixed layer may be coated with carbonate films. As the concentration of CO_2 in the atmosphere increases owing to the burning of fossil fuels and other activities of society, and the CO_2 content of the mixed layer also increases, carbonate coatings on calcite should begin to dissolve before aragonite and calcite. Furthermore, if these reactions involving CO_2 and carbonates are globally significant, then models of the global balance of CO_2 , that assume no uptake of CO_2 by reactions with solids in the oceans until aragonite saturation is reached, may be significantly in error.

Introduction

It is commonly assumed that the increase of CO_2 in the atmosphere is accompanied by increased dissolved CO_2 in the mixed layer of the ocean. It is further assumed that the increase of CO_2 in the ocean is entirely related to increased solubility of gaseous CO_2 in seawater, and that there is no significant dissolution of carbonate minerals that would augment uptake by the mixed layer. This second assumption is based upon many measurements of the saturation states of low magnesian calcite (henceforth called calcite) and of aragonite in the shallow marine waters that show supersaturation with respect to both phases.

The assumption of lack of reaction of increased CO_2 with carbonate minerals is open to two major possible errors: first, there may be very large areas in high latitudes where both calcite and/or aragonite are dissolving in undersaturated mixed-layer waters (cf. Alexandersson, 1976, 1978; Berner, 1977), but where few measurements of saturation state have thus far been made; second, carbonates with higher solubilities than calcite or aragonite may respond to CO_2 change.

This article is devoted largely to studies of the behavior of calcite (< 1 mole % MgCO_3) in typical mixed-layer seawater--namely seawater from the shallow waters of Bermuda, which are continuously supersaturated with respect to calcite and aragonite. In addition to revealing some aspects of the behavior of calcite, we use this article as a vehicle for demonstrating some of the pitfalls faced by investigators of carbonate-seawater reactions.

Review of Some Reactions of Calcite with Seawater

Waters of the mixed layer of the intermediate- and low-latitude oceans are commonly supersaturated three- to four-fold with respect to calcite. This supersaturation persists even if the seawater is in contact with shallow water sediments and suspended materials containing abundant calcite. Berner (1975) demonstrated that a supersaturation of about 400% (degree of saturation = $100 \times \text{ratio of ion activity product of } \text{Ca}^{++} \text{ and } \text{CO}_3^{=}$ in seawater to the equilibrium value = $100 \text{ IAP}/K_e$) is required for a finite rate of carbonate precipitation on calcite seed materials in seawater of average composition. Pytkowicz (1965) showed that homogeneous nucleation of carbonates is strongly inhibited by the magnesium concentration of seawater. A number of investigators (cf. Chave, 1965, and Chave and Suess, 1967) found that the pH lowering caused by the addition of calcite to seawater is dependent on surface area. Weyl (1965), in a series of excellent experiments, showed that as seawater is progressively neutralized in the presence of calcite grains, the first precipitate has a solubility about the same as that of the calcite, but that subsequent precipitates formed from supersaturated waters have higher solubilities.

There is a continuing controversy concerning the reasons for the inhibition of the growth of calcite in supersaturated seawater--whether it is dominated by organic coatings, by phosphate adsorption, or by a magnesium effect. We consider that the work reported here represents nearly time-independent relations between solution and solids, whatever the explanation of our observations.

General Experimental Procedure

Measurements: Measurements of pH were made with a Corning 130 digital read-out pH meter, using a combination glass--saturated calomel electrode, and were recorded on a Varian paper strip recorder. The meter is quite stable; checks on a pH 7 buffer over periods of 24 hours seldom showed drifts of more than a few thousandths of a pH unit. The precision of the measurements is estimated to be within ± 0.005 pH units. Laboratory temperatures fluctuated a few degrees, with a mean close to 25°C ; consequently, temperature corrections were not necessary.

Total and carbonate alkalinities were measured using the pH method (Grasshoff, 1976), in which a fixed amount of standard HCl is added to 50 ml of seawater, and the resultant pH is recorded. Eight replicate samples had a standard deviation of 0.004 meq/liter.

Materials: Reagent-grade calcite (Fisher) was reacted with seawater collected directly from Ferry Reach, a 400 m wide, 4 km long channel open to the ocean at both ends, and continuously flushed with tidal currents. Chemical analysis of the calcite is given in Table 1. The identification as calcite was confirmed by x-ray diffraction analysis, which indicated well-crystallized material of uniform composition.

Experiments in Closed Systems

Introduction: A number of experiments involved the addition of weighed increments of reagent-grade calcite to samples of 5 to 50 milliliters of fresh seawater from Ferry Reach. Some of these experiments were in the style of classical carbonate saturometry as originally introduced by Weyl

(1961). A 10 mm internal diameter centrifuge tube, that tapered toward its closed end, made possible pH measurements with a few milliliters of seawater, if the electrode was lowered as far as possible into the tapered part of the tube.

The simplest experiment was the addition of excess calcite to the system, so that the settled calcite mud covered the electrode to a depth of several centimeters. pH was then recorded as a function of time, and it was assumed that the reactions in the calcite-seawater system were isolated from the external atmosphere, and even from the supernatant seawater.

In a second type of experiment, the reagent-grade calcite was added to the centrifuge tubes in increments, and the pH recorded for each increment until a constant value was achieved.

A third type of closed system experiment involved addition of various weights of calcite to fixed volumes of seawater in stoppered pyrex flasks. The flasks were continuously shaken on a shaker table, and measurements of pH made at increasing time intervals.

Precautions: Although several experiments in closed systems were successful, the experimental difficulties are such that we did most of our work in systems equilibrated with the P_{CO_2} of the Bermuda atmosphere. If the seawater was not poisoned with $HgCl_2$, CO_2 production from organic materials in the seawater caused lowering of pH in excess of that caused by carbonate precipitation. Even if the water was treated with $HgCl_2$, bacterial action was apparently not entirely halted at Hg concentrations ordinarily deemed sufficient to inhibit biological activity. We were always in doubt as to whether we had added enough Hg, or whether we had added so much that it interfered with the carbonate reactions. At any rate, a slow drift of pH downward occurred in many experiments. Also, in experiments in centrifuge

tubes, the system was not truly closed, and CO_2 escaped into the atmosphere at a rate sufficient to invalidate experiments lasting longer than an hour or two. Finally, we observed what seems to be an influence of carbonate particles on the pH electrode. Calcite-seawater systems, as well as natural carbonate sediment-seawater systems, typically yielded pH values in the settled sediment different from those in the supernatant seawater. If a bottle with sediment was shaken, and the pH then measured at the bottom of the bottle as the sediment settled, the pH usually diminished as the sediment accumulated and compacted. We suspect that CO_2 is adsorbed on the carbonate particles, but have not by any means established the validity of this suggestion.

Results: Despite these difficulties, some of the experiments in closed systems produced useful results. The procedures of calculation and measured and computed values discussed below are given in the Appendix.

1. Stability of calcite: Addition of excess reagent-grade calcite to seawater in a centrifuge tube produces pH values of 7.48 to 7.50 in the sediment surrounding the electrode. Calculations from these values yield an apparent constant, (K') , $m_{\text{Ca}^{++}} m_{\text{CO}_3^{=}}$, for calcite of $10^{-6.29}$, which corresponds, according to our conversions of concentrations to activities, to a K ($a_{\text{Ca}^{++}} a_{\text{CO}_3^{=}}$) of $10^{-8.5}$. These values are in excellent agreement with values of K' for pure calcite determined by Ben-Yaakov and Goldhaber (1973) and values of K determined by Christ, et al. (1974). Berner (1976) obtained a K' of $10^{-6.23}$ and a K of $10^{-8.45}$, slightly larger values but consistent in their difference.

2. Solubility of precipitates on reagent-grade calcite as a function of "relative thickness", i.e., weight of precipitate formed per gram of calcite: It has been known for a long time that addition of a small amount

of reagent-grade calcite to typical surface seawater causes a lowering of pH, and a second addition lowers the pH still further. After each addition a record of pH with time shows that the pH values achieved are constant. Chave (1965) and Chave and Suess (1967) apparently assumed that the carbonate precipitated by the lowering of pH is a low magnesian calcite with a solubility like that of calcite, and that the system is prevented from attaining equilibrium with this precipitate because organic matter stops the reaction. Weyl (1965), on the other hand, showed clearly that precipitates of different and higher solubilities than calcite can be formed on calcite. Berner (1975) shows an electron photomicrograph of a high magnesian calcite (~ 7-10 mole % MgCO_3) that he grew from supersaturated seawater on low magnesian calcite seeds. High magnesian calcites, although their solubilities are not well established, are more soluble than nearly pure calcite. We have taken the stand, for reasons to be given later, that the small lowering of pH to a constant value caused by addition of a small amount of reagent-grade calcite to seawater is, indeed, the result of the precipitation of a carbonate more soluble than calcite.

Figure 1 shows the results of experiments in closed systems, in which the constant pH values achieved after additions of calcite to seawater are plotted against the weights of calcite added per cm^3 of seawater. Figure 2 shows the "relative thickness", i.e., micromoles of carbonate precipitated per gram of calcite added to the solution, as a function of the negative log of the ion activity product of Ca^{++} and $\text{CO}_3^{=}$ in the solution, $-\log (\text{IAP})$. This form is a matter of convenience; the composition of the precipitate is unknown, so its activity product cannot truly be calculated. A question also arises concerning the achievement of equilibrium between precipitate

and solution. Thus, a calculated IAP for CaCO_3 serves principally to illustrate the change in the amount of dissolved carbonate in the solution as a function of the average thickness of the precipitated layer.

Further discussion of closed systems will be postponed until the open system work has been described.

Experiments in Open Systems

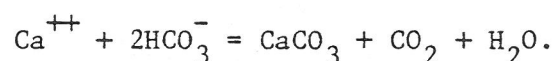
General: Because of the difficulties encountered in our studies of closed systems, we did most of our work in solutions equilibrated with the Bermuda atmosphere. One requirement of this method is that the P_{CO_2} of the atmosphere be known, or at least it is necessary to know its variations with time. P_{CO_2} of the local atmosphere was tested by bubbling air through a sample of seawater with measured carbonate alkalinity and continuously recording the pH of the sample. pH variations during most of these experiments were very small, about 0.02 pH units. During the investigation we found P_{CO_2} levels in the laboratory air as high as 500 ppm. Even with an air source outside the laboratory, we found significant contamination from the exhausts of air conditioners until we moved the intake of the aquarium pump well away from the laboratory building. The average P_{CO_2} of Bermuda air during August, 1978, calculated from the pH and alkalinity of the equilibrated seawater, is somewhat below the world average; 320 ppm by volume. Despite the good stability of our pH meter, the accuracy of the CO_2 determinations is probably ± 15 ppm.

Stability of calcite: The stability of the reagent-grade calcite was determined in the open system by placing 15 or sometimes 20 milliliters of seawater in a plastic tube fitted with a fritted glass disk at the bottom.

Air from an aquarium pump located outside the laboratory was first bubbled through seawater, which served to saturate it with water vapor, as well as to act as a monitor for P_{CO_2} of the air. The air was then passed up through the disk to agitate the seawater in the plastic tube. Tests showed no sensitivity of the pH measurement to bubbling rate. After equilibration of the seawater with air, determined from a constant pH of the recorder record, an excess of reagent-grade calcite was added to the system. The pH achieved (7.86) is consistent with a pK' of 6.29 and a pK of 8.50, as obtained from the constants and calculation procedures given in the Appendix.

IAP_{CaCO₃} vs. relative thickness: As in the closed system, increments of reagent-grade calcite were added to 15 milliliters of seawater equilibrated with the atmosphere. Again pH was plotted against weight of calcite added (Fig. 3) and $-\log \text{IAP}_{\text{CaCO}_3}$ of the solution was plotted versus "relative thickness" (Fig. 4). The results of closed system experiments opened and re-equilibrated with air are also shown on Fig. 3.

Combined experiment: Figure 5 is a plot of $-\log \text{IAP}_{\text{CaCO}_3}$ versus relative thickness of the precipitated layer for experiments in which calcite is first equilibrated in closed systems, then the systems are opened to the atmosphere by bubbling air through them. For comparison, the plot also includes the results of the closed and open system experiments referred to above. When reagent-grade calcite is added to a closed system, carbonate is precipitated by reaction with both carbonate ion and bicarbonate ion. Reaction with bicarbonate ion generates CO_2 according to



The P_{CO_2} rises to about 4 times the original value. When the system is opened CO_2 is swept out, $\text{CO}_3^{=}$ ion increases, and more CaCO_3 is precipitated. At the end of the cycle, carbonate alkalinity is reduced to less

than half its original value. The thickness versus $-\log \text{IAP}$ curves for the precipitates formed in the closed system, in the system that was opened after being "closed", and in the system open from the beginning, show similar functional relations between $-\log \text{IAP}$ and relative thickness (Fig. 5).

Aragonite

Only one set of seawater experiments was run with aragonite. Berner (1975) showed that the behavior of aragonite in seawater is not affected by the presence of magnesium. Our experiments consisted of putting Hg-poisoned seawater into closed flasks with various weights of acid-washed, ground ($< 62 \mu\text{m}$) aragonite (0.1 to 1.0 g in 20 ml) obtained from the coral Diploria sp. The flasks were continuously shaken on a shaker table and the pH of the suspensions was monitored as a function of time. Flasks containing more than 0.3 grams of aragonite gave a final pH of 7.71 after reaction, which corresponds to a pK of 8.31, between the value of 8.36 for pure, well-crystallized aragonite obtained by Siebert, et al. (1974), and the value of 8.28 determined by Berner (1976). The flasks with 0.3 and 0.1 g aragonite yielded constant values as much as 0.1 pH units higher than those with higher solid to solution ratios, suggesting that precipitation of a relatively thick layer of new carbonate on aragonite results in structural or compositional differences that make the precipitated carbonate a little more soluble than aragonite. In any case, the effect of the precipitate thickness on $-\log \text{IAP}_{\text{CaCO}_3}$ is much less important for aragonite than for calcite.

Discussion of Open and Closed System Experiments

The graphs of $-\log \text{IAP}_{\text{CaCO}_3}$ versus relative thickness of the precipi-

thickness at a poorly-defined value of about 7.9. The limiting value of $-\log \text{IAP}$ is not as accurate for the closed system experiment because no data were obtained for small additions of calcite to seawater. Nevertheless, the value of 7.9 corresponds to a supersaturation relative to calcite expressed in terms of $\log \frac{\text{IAP}}{K_{\text{calcite}}} \quad (\log \Omega)$ of 0.6 (400%). Berner (1975) found that a supersaturation of about this amount or more was necessary for the growth of small quantities of carbonate on calcite seeds in seawater (0.1-1.8 g calcite seeds/liter seawater). He also showed that the carbonate grown at a constant supersaturation of about $\log \Omega = 0.7$ (500%) was a 7-10 mole % magnesian calcite.

We conclude that calcite grains, exposed to supersaturated seawater, grow a layer of progressively more soluble carbonate. The upper limit of solubility of the outer surface of this layer is at a $-\log \text{IAP}$ of about 7.9 (Fig. 5). This value for $-\log (a_{\text{Ca}^{++}} a_{\text{CO}_3^{--}})$ in seawater corresponds to a pH of about 8.2 for surface seawater of average alkalinity--the pH generally accepted as representative of the temperate and tropical surface oceans. If surface seawater achieves higher pH values, the surface layer on the calcite should increase in thickness at constant solubility, tending to return the pH to 8.2. Berner, by maintaining a constant supersaturation of $\log \Omega = 0.7$, achieved a continuous increase of thickness at constant composition. From the work of Berner and that of Weyl (1965), it seems clear that the decrease in $-\log \text{IAP}$ of the CaCO_3 component of the precipitated layer is caused chiefly by increasing Mg content. The maximum solubility achieved undoubtedly is controlled by the Mg content of seawater--a higher Mg/Ca ratio might well result in precipitation of a more soluble magnesian calcite with a higher Mg content.

We find it difficult to sustain arguments against the achievement of metastable equilibrium between seawater and added calcite in our experiments. The arguments for metastable disequilibrium, based on interference of organic matter or another surfactant, are countered by our experiments in which calcite was first equilibrated in closed systems and then in open systems. For a given closed system experiment, the amount of carbonate precipitated in the closed system became constant, and held that constancy for several days. When the system was opened, and the excess CO_2 was swept out of the system by air, much more carbonate was precipitated, showing that the carbonate surface was entirely receptive to more precipitate when the $\text{CO}_3^{=}$ in the solution was increased. Furthermore, when the system was opened, and more precipitate was formed, the $-\log \text{IAP}$ of the solution decreased because of the increased solubility of the thicker precipitate.

Figure 5 shows that all the precipitation experiments have the same functional relation between the amount of carbonate precipitated per gram of calcite added, and the activity product of calcium and carbonate in the resultant solution. The activity product in the solution increases with increasing thickness, and reaches an asymptote at a rather poorly defined $-\log \text{IAP}$ value of about 7.9.

This similarity in functional relationship is independent of whether precipitation on the calcite added took place in separate containers with different weights of calcite, or whether the precipitation took place in a single container on successive additions of calcite. This result means that the "solubility"--relative-thickness relation is nearly independent of the pathway used to achieve it.

Thus, a small addition of calcite to calcite-supersaturated seawater results in a relatively thick layer of precipitated carbonate. The reacted

seawater is presumably saturated with respect to the CaCO_3 component of the outer portions of this layer (not necessarily in total equilibrium as a solid solution). A second addition of calcite lowers the pH of the seawater again, and produces precipitated carbonate with a solubility of its outer surface lower than that for the first increment. We conclude that part of the first precipitate must dissolve and reprecipitate on the second increment of calcite, because the outer portion of the carbonate of the first increment has a solubility greater than the solubility of the final surface exposed to the solution after the second increment. Thus, the system reaches its metastable equilibrium by precipitation on the second increment, and by dissolution of part of the layer of carbonate precipitated on the first increment. This sequence of events is necessary if the incremental additions to the open system are to give the same basic results as individual open systems with different initial calcite additions.

The importance of this argument is that the relatively highly soluble carbonates precipitated on calcite from calcite-supersaturated seawater are responsive to decreases in the supersaturation of that seawater and dissolve to produce other carbonates more soluble than calcite in the less supersaturated seawater. The preceding statement means that in the surface seawater-suspended solid system of the mixed layer of the ocean, there are solids that will respond to decreases in the supersaturation of that system with respect to calcite by dissolving, and thus must be considered as sinks for atmospheric carbon dioxide.

Dissolution Experiments

To test the reactivity of the carbonate layer precipitated on calcite in supersaturated seawater, several qualitative experiments were performed.

One gram of the reagent-grade calcite used in the preceding experiments was added to a liter of seawater equilibrated with Bermuda air. In one experiment the initial pH of the seawater equilibrated with air was raised to 8.30 with sodium carbonate solution; in the other the pH was 8.19, that of the natural seawater in equilibrium with the Bermuda atmosphere. The final pH of the first experiment, after the addition of one gram of calcite, was 8.14; that of the second experiment, 8.12. These pH values, in the open system, correspond to $-\log \text{IAP}$ values of 7.96 and 8.00, respectively. The calcite, therefore, was coated with a layer of carbonate, the outer part of which possessed a solubility higher than that of calcite ($-\log K = 8.50$) or aragonite ($-\log K = 8.31$). The coated calcite was then separated from the seawater by filtration, and while still damp was added to 10 ml of Ferry Reach seawater equilibrated with Bermuda air and adjusted to pH 7.88 (very nearly a solution in equilibrium with pure calcite at pH 7.86). The pH of the first solution rose to 8.02, that of the second to 8.00. The experiments lasted 24 hours; the pH was not entirely constant, and was still creeping upward at a very low rate at the termination of the experiment.

The first conclusion that can be drawn from these experiments is that the carbonate precipitated on calcite from supersaturated seawater reacted with seawater saturated with calcite, and dissolved to produce a pH (8.0) higher than those in equilibrium with calcite or aragonite (7.86 and 7.95, respectively). The second conclusion is that the observed pH (and IAP) is considerably lower than one might have predicted from the solubility calculated for most of the carbonate precipitated on the calcite treated with seawater. A pH of about 8.1, corresponding to a $-\log \text{IAP}$ of about 8.0, would be a reasonable prediction for the result of addition of the gram of seawater-treated calcite. The lower pH found (pH = 8.0 and $-\log \text{IAP} = 8.2$) we cannot explain. It is conceivable that the rate of solution of the magnesian

calcite precipitated on the calcite is extremely slow because of inhibition by phosphate (see Hanor, in press), but more experimental work is necessary to resolve the anomaly.

Conclusions

Additions of nearly pure calcite to Bermuda seawater initially supersaturated with calcite and aragonite produce a surface film of carbonate on the calcite that is more soluble than calcite. The negative logarithms of the product ($a_{\text{Ca}^{++}} a_{\text{CO}_3^{--}}$) for this carbonate range from about 7.9 for thick films deposited from high pH seawater to 8.5 (the pK for pure calcite) for thin films precipitated on large surface areas at pH values representing near-equilibrium with calcite. The increase of solubility of the film is probably correlated with increasing Mg content of the precipitated carbonate. The most convincing demonstration of increased solubility with increased thickness of precipitated film comes from experiments in which the IAP for CaCO_3 of the seawater was first decreased by addition of calcite and precipitation of carbonate in a closed system, then increased by opening the system to the atmosphere and thickening the precipitate on the solid.

Experiments designed to test the solubility of the precipitates by dissolving them to equilibrium gave equivocal results. On the one hand, the precipitates exhibited a solubility greater than aragonite or calcite; on the other hand, the solubilities are less than predicted. However, these experiments do demonstrate that the precipitates react rapidly in undersaturated seawater.

Furthermore, as the concentration of CO_2 in the atmosphere increases, and the CO_2 content of the ocean mixed layer also increases, carbonate coatings on calcite should begin to dissolve before aragonite or calcite. Further investigations are necessary to determine the importance of the coatings in the global balance of carbon dioxide, but it is clear that models that assume no uptake of CO_2 by reaction with solids until aragonite undersaturation is reached may be significantly in error.

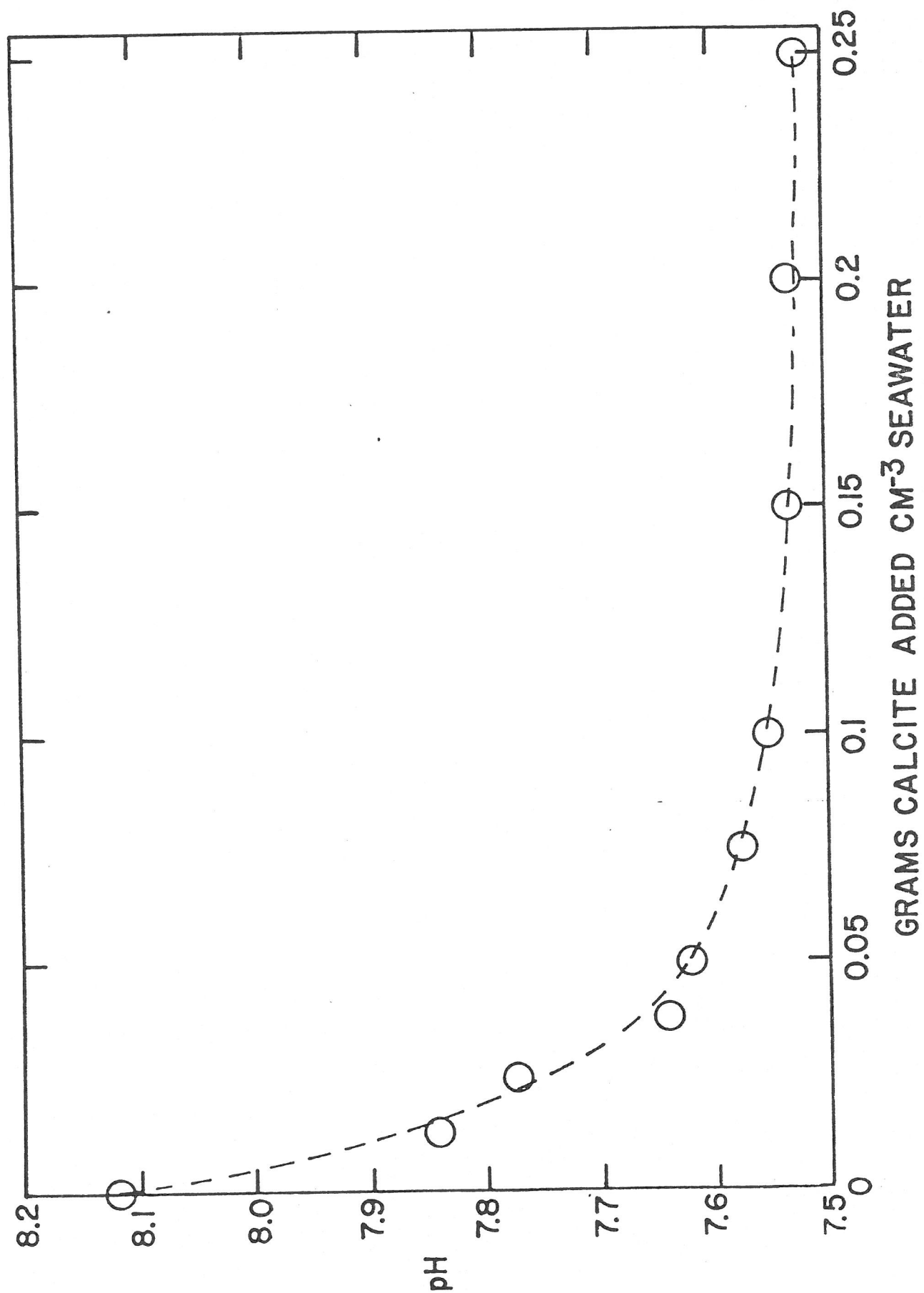
TABLE 1

Chemical Analysis of Fisher Calcite

<u>Component</u>	<u>Percent</u>
CaCO ₃	100.02
SO ₄	0.002
Ba	0.003
Ce	0.0005
Fe	0.0007
Heavy metals (as Pb)	0.0007
Sr	0.04
Mg	0.004
K	0.003
Na	0.02
Insoluble in HCl	0.005

Figures

- Fig. 1. Closed-system saturometry with reagent-grade calcite. Individual weights of calcite added to 20 cm³ of HgCl₂-treated seawater in stoppered flasks. Final pH value by extrapolation equals 7.5.
- Fig. 2. Negative logarithm of IAP_{CaCO_3} ($a_{Ca^{++}} a_{CO_3^{=}}$) as a function of relative thickness of carbonate precipitate (in μ moles of CO₃⁼ precipitated gram⁻¹ calcite) for closed system experiments.
- Fig. 3. Open-system saturometry with reagent-grade calcite compared to results of closed systems re-equilibrated with the atmosphere. Open system experiment represents successive additions of calcite to 15 cm³ of seawater. Final extrapolated pH value is 7.86. Closed system experiments represent individual weights of calcite added to 20 cm³ of HgCl₂-treated seawater in stoppered flasks. The closed systems were equilibrated, then opened, and re-equilibrated by bubbling air through them.
- Fig. 4. Negative logarithm of IAP_{CaCO_3} ($a_{Ca^{++}} a_{CO_3^{=}}$) as a function of relative thickness of carbonate precipitate (in μ moles CO₃⁼ precipitated gram⁻¹ calcite) for open system experiment.
- Fig. 5. Comparison of functional relations between $-\log IAP_{CaCO_3}$ and relative thickness of precipitate for open, closed, closed-then-open system experiments. Notice the apparent, but crude, similarity in the results for the three experiments. The values of the stability constants (pK) for calcite and aragonite are also shown.



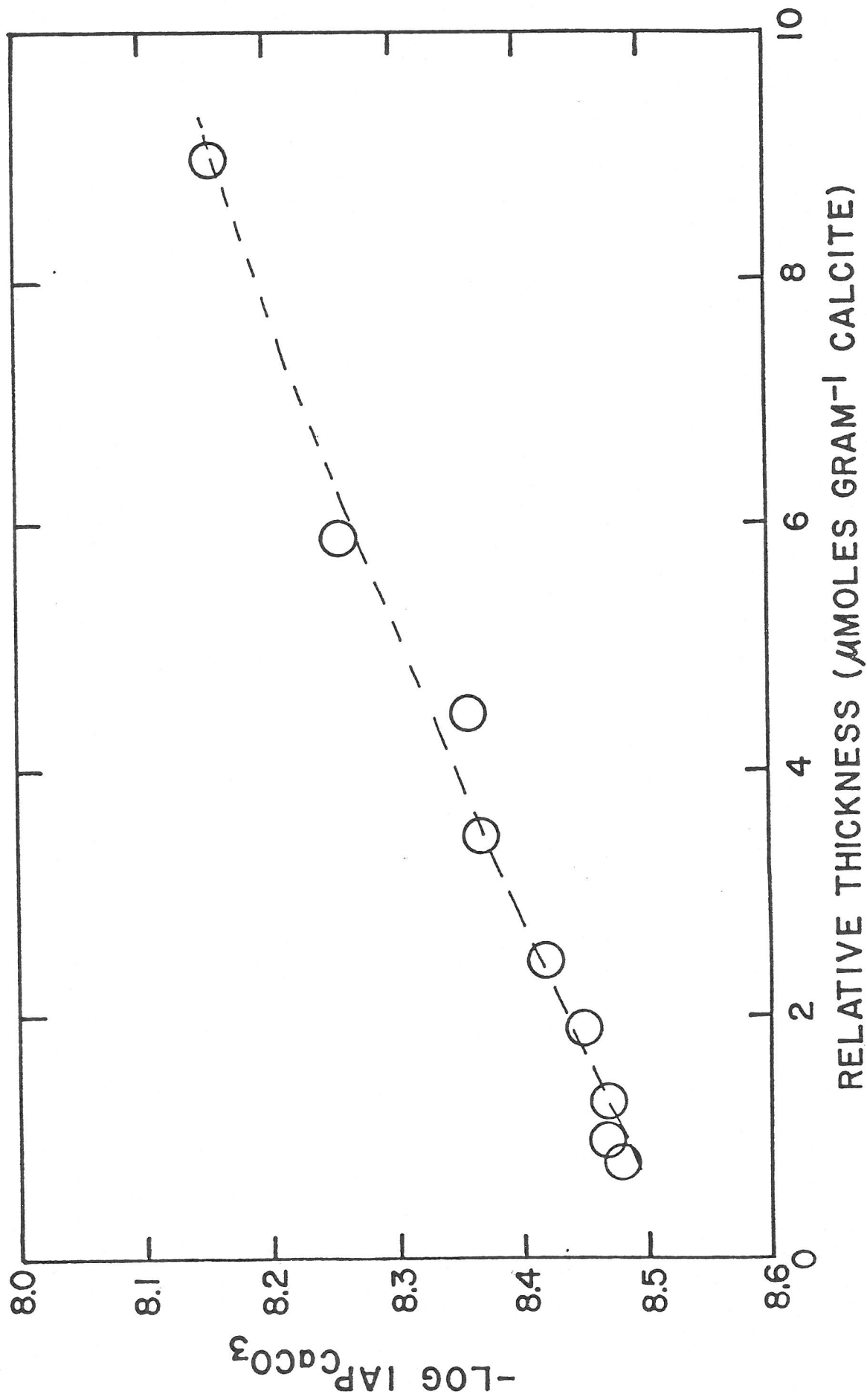
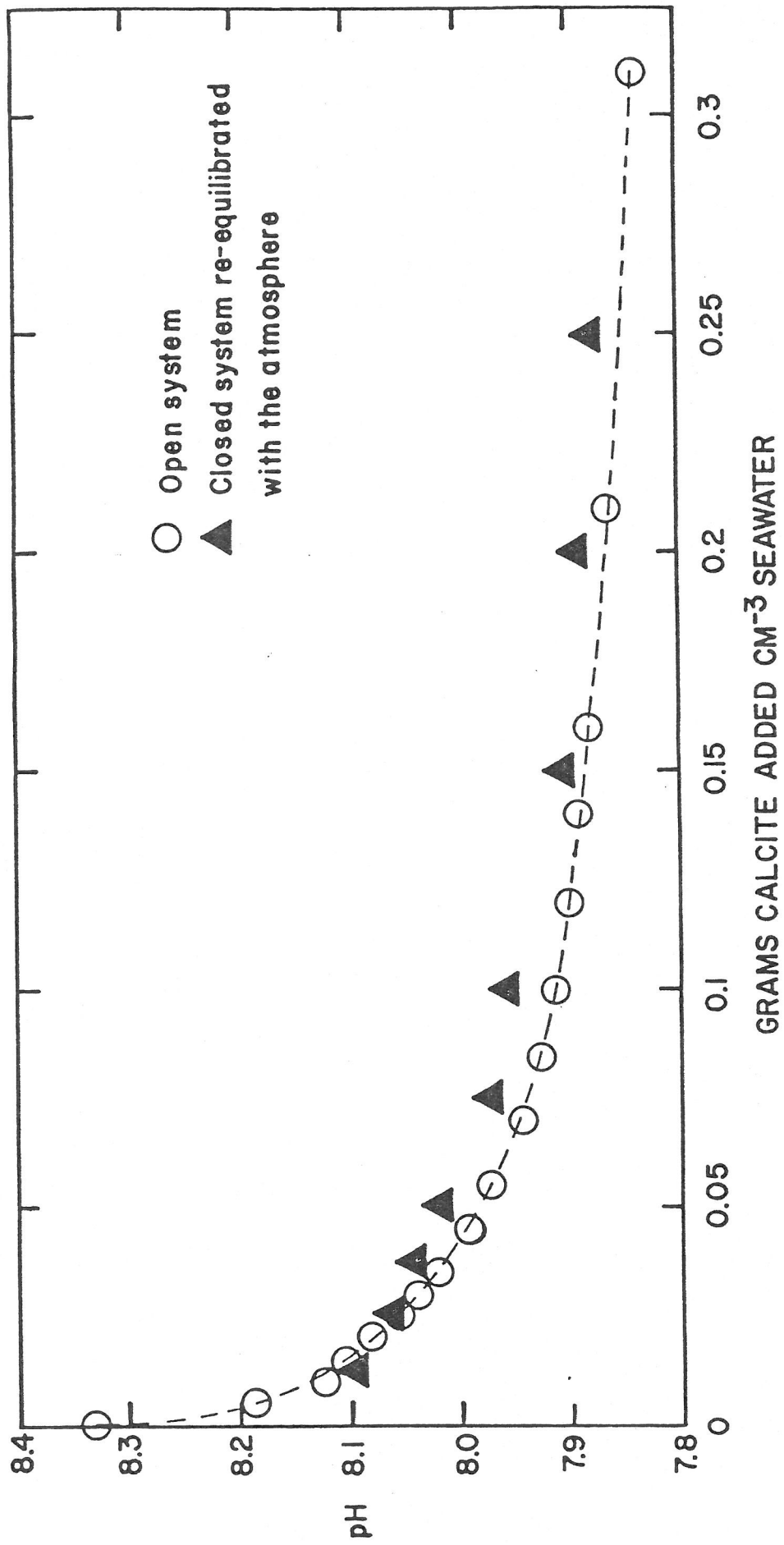
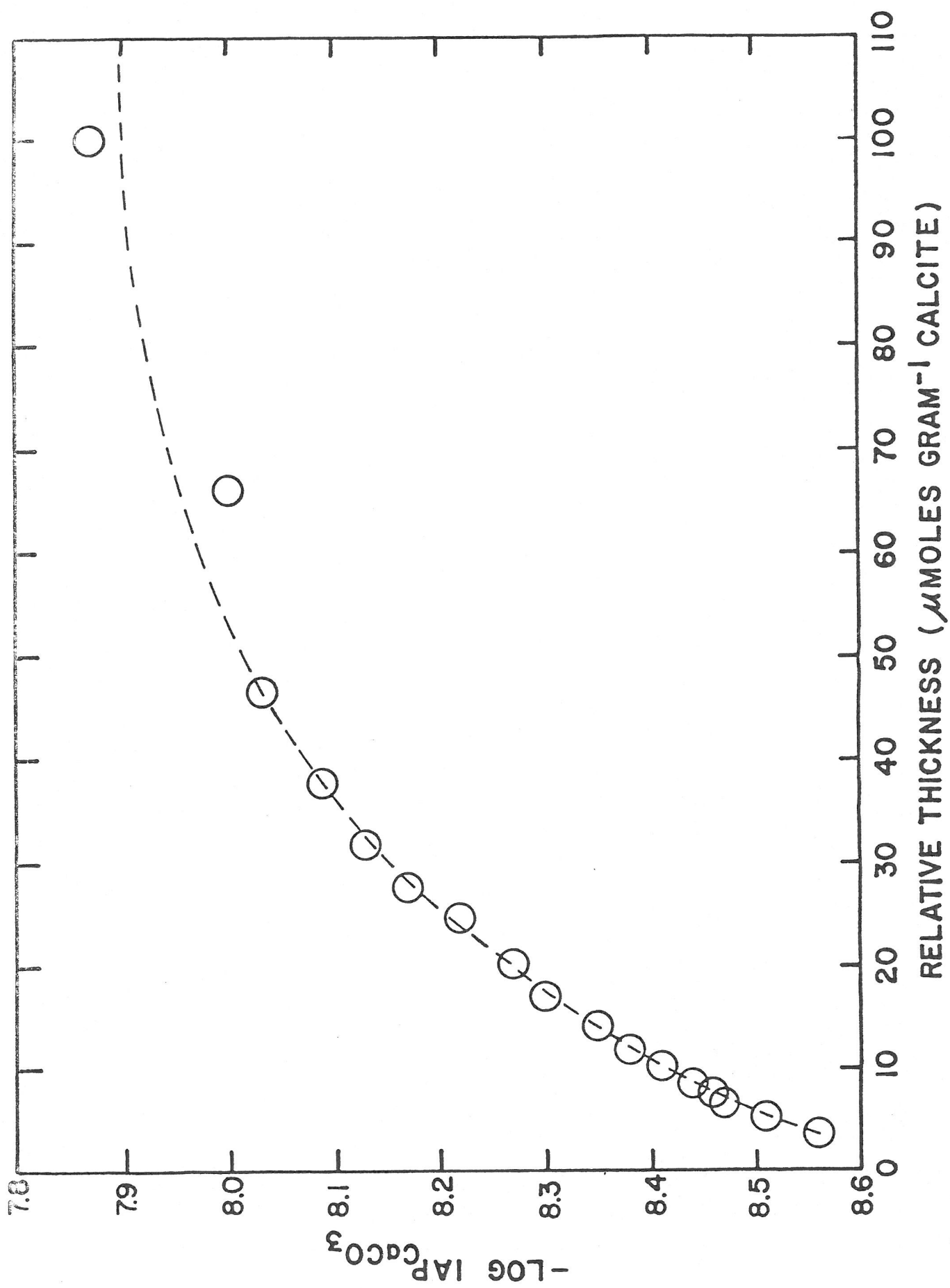
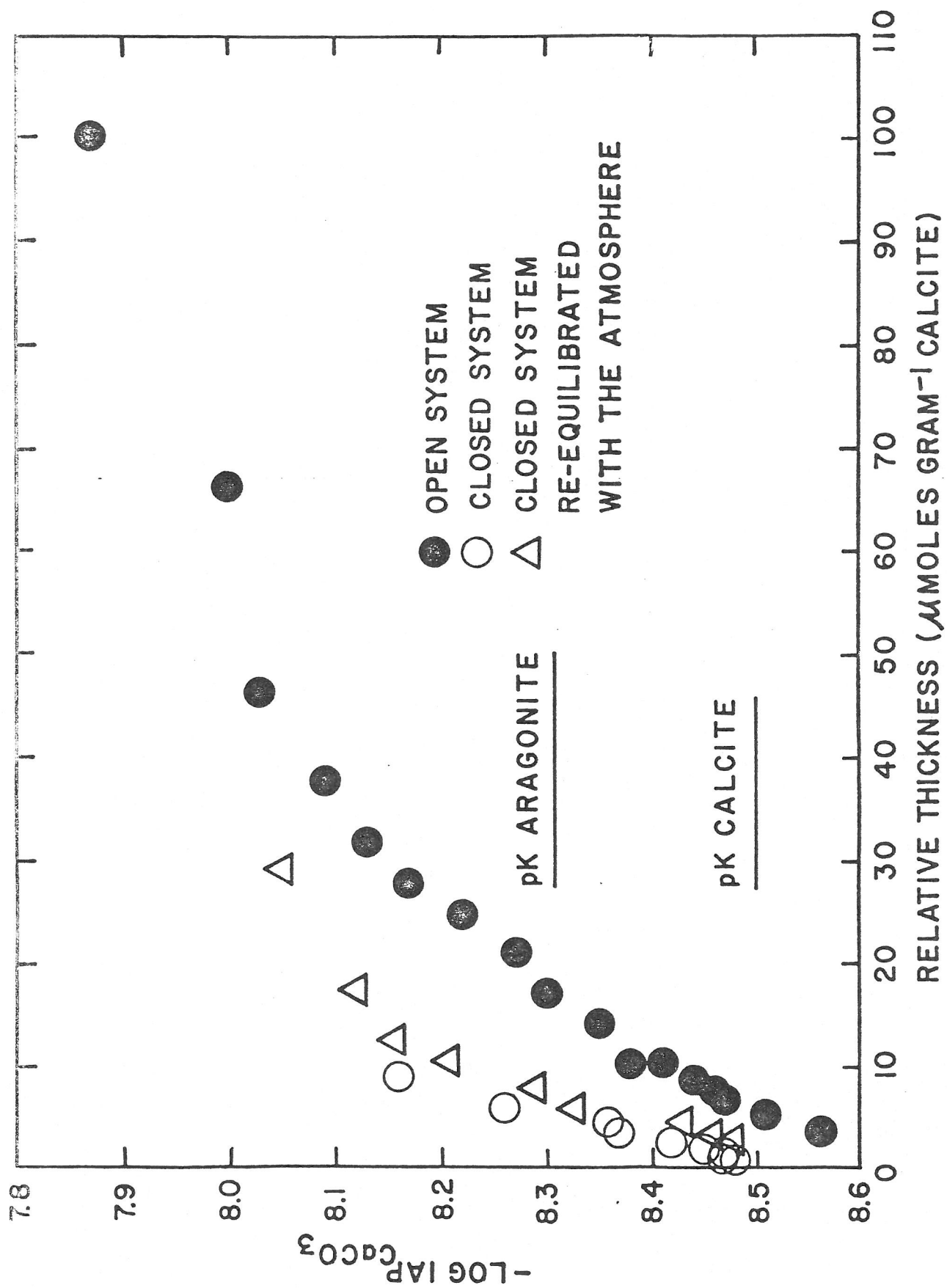


Fig. 2



8.2





References

- Alexandersson, E. T., 1976, Actual and anticipated petrographic effects of carbonate undersaturation in shallow seawater: *Nature*, v. 262, p. 653-657.
- 1978, Destructive diagenesis of carbonate sediments in the eastern Skagerrak, North Sea: *Geology*, v. 6, p. 324-327.
- Ben-Yaakov, S., and Goldhaber, M. B., 1973, The influence of sea water composition on the apparent constants of the carbonate system: *Deep-Sea Res.*, v. 20, p. 87-99.
- Berner, R. A., 1975, The role of magnesium in the crystal growth of calcite and aragonite from sea water: *Geochim. Cosmochim. Acta*, v. 39, p. 489-504.
- 1976, The solubility of calcite and aragonite in seawater at atmospheric pressure and 34.5‰ salinity: *Amer. Jour. Sci.*, v. 276, p. 713-730.
- 1977, Sedimentation and dissolution of pteropods in the ocean, in Andersen, N. R., and Malahoff, A., eds., *The Fate of Fossil Fuel CO₂ in the Oceans*: Plenum Publishing Corp., p. 243-260.
- Berner, R. A., Westrich, J. T., Graber, R., Smith, J., and Martens, C. S., 1978, Inhibition of aragonite precipitation from supersaturated seawater: A laboratory and field study: *Amer. Jour. Sci.*, v. 278, p. 816-837.
- Chave, K. E., 1965, Carbonates: Association with organic matter in surface seawater: *Science*, v. 148, p. 1723-24.
- Chave, K. E., and Suess, E., 1967, Suspended minerals in seawater: *Trans. N.Y. Acad. Sci. Ser. II*, v. 29, p. 991-1000.
- Christ, C. L., Hostetler, P. B., and Siebert, R. M., 1974, Stabilities of calcite and aragonite: *U.S. Geol. Survey Jour. Research*, v. 2, p. 175-184.
- Grasshoff, K., 1976, *Methods of seawater analysis*: Verlag-Chemie, Weinheim, Germany, 312 p.
- Pytkowicz, R. M., 1965, Rates of inorganic calcium carbonate nucleation: *Jour. Geol.*, v. 73, p. 196-199.
- Siebert, R. M., Hostetler, P. B., and Christ, C. L., 1974, Activity-product constants of aragonite at 90°C and 51°C: *U.S. Geol. Survey Jour. Research*, v. 2, p. 447-455.
- Walter, L. M., and Hanor, J. S., (In press), Effect of orthophosphate on the dissolution of biogenic magnesian calcites: Implications for early carbonate diagenesis: *Geochim. Cosmochim. Acta*.
- Weyl, P. K., 1961, The Carbonate Saturation: *Jour. Geol.*, v. 66, p. 163-176.
- 1967, The solution behavior of carbonate materials in sea water: *Proc. Int. Conf. on Tropical Oceanogr.*, Miami, Florida (University of Miami). p. 178-228.

Appendix

Constants

The constants used for the calculations are listed below. These values are a consistent set developed by Hung Chang, a graduate student at Northwestern University, who surveyed the current literature and attempted to derive a unique set of constants that would fit the thermodynamic values and the empirical K's for seawater. Although the values used are not unique, the various other consistent sets he obtained are not markedly different, in most cases they agree within about 0.02 $\log_{10}$ units. All values are for 25°C.

$$K_{\text{calcite}} = a_{\text{Ca}^{++}} a_{\text{CO}_3} = 10^{-8.50} \quad (1)$$

$$K'_{\text{calcite}} = m_{\text{Ca}^{++}} m_{\text{CO}_3} = 10^{-6.29} \quad (2)$$

$$K'_2 \text{ carbonic acid} = \frac{a_{\text{H}^+} m_{\text{CO}_3}}{m_{\text{HCO}_3^-}} = 10^{-9.09} \quad (3)$$

$$K'_1 \text{ carbonic acid} = \frac{a_{\text{H}^+} m_{\text{HCO}_3^-}}{m_{\text{CO}_{2\text{aq}}}} = 10^{-6.00} \quad (4)$$

$$K_0 \text{ carbon dioxide} = \frac{a_{\text{CO}_{2\text{aq}}}}{P_{\text{CO}_2}} = 10^{-1.47} \quad (5)$$

$$\gamma_{\text{Ca}^{++}} \gamma_{\text{CO}_3} = 10^{-2.21}, \quad \gamma_{\text{HCO}_3^-} = 10^{-0.33}, \quad \gamma_{\text{CO}_{2\text{aq}}} \cong 1$$

For Bermuda seawater:

$$m_{\text{Ca}^{++}} = 0.0109 \text{ moles/liter,}$$

$$P_{\text{CO}_2} (\text{Bermuda air}) = 10^{-3.51} \text{ atmospheres,}$$

$$K'_{\text{borate}} = \frac{a_{\text{H}^+} m_{\text{B(OH)}_4^-}}{m_{\text{B(OH)}_3}} = 10^{-8.73} \quad \text{and} \quad (6)$$

$$\text{total borate} = \Sigma_B = 0.434 \text{ millimoles/liter.}$$

Measurements and Calculations

a_{H^+} was measured with glass electrodes calibrated on the NBS scale and the total alkalinity according to Grasshoff (1976). The relation between total alkalinity and carbonate alkalinity is given by:

$$A_T = A_c + A_B = A_c + \frac{0.434}{1 + Q_{\text{H}^+}}, \text{ where } Q_{\text{H}^+} = \frac{a_{\text{H}^+}}{K'_B}. \quad (7)$$

From the equations given above, the following relations can be obtained:

$$m_{\text{CO}_3} = \frac{A_c}{(2 + a_{\text{H}^+}/K'_2)}, \quad (8)$$

$$m_{\text{HCO}_3^-} = \frac{a_{\text{H}^+} m_{\text{CO}_3}}{K'_2} = \frac{A_c}{\left(1 + \frac{2K'_2}{a_{\text{H}^+}}\right)}, \quad (9)$$

$$m_{\text{CO}_{2\text{aq}}} = \frac{a_{\text{H}^+} m_{\text{HCO}_3^-}}{K'_1}, \quad (10)$$

$$P_{CO_2} = \frac{a_{CO_2aq}}{K_o} \quad \text{and} \quad (11)$$

$$\Sigma_{CO_2} = \frac{A_c (1 + \frac{a_{H^+}}{K_1'} + \frac{K_2'}{a_{H^+}})}{(1 + 2 \frac{K_2'}{a_{H^+}})} . \quad (12)$$

The measurements of pH and total alkalinity and the use of the above expressions permit us to describe entirely the distribution of carbonate species in the initial system.

Closed System

The precipitation or dissolution of y moles of calcium carbonate in seawater requires, for conservation of mass and charge balance, the following relations:

$$\Sigma_{CO_2} = \Sigma_{CO_2}^o + y \quad \text{and} \quad (13)$$

$$A_c = A_c^o + 2y . \quad (14)$$

The superscript o refers to the initial condition and y is negative for precipitation and positive for dissolution.

By combining equations (7) (12) (13) and (14) one obtains

$$y = \frac{\Sigma_{CO_2}^o \left(1 + \frac{2K_2'}{a_{H^+}} \right) - (A_T^o - A_B^o) \left(\frac{a_{H^+}}{K_1'} + 1 + \frac{K_2'}{a_{H^+}} \right)}{1 + \frac{2a_{H^+}}{K_1'}} . \quad (15)$$

Thus, the amount of calcium carbonate precipitated or dissolved in a closed system may be evaluated from equation (15) by measuring the final pH, if the initial total alkalinity and pH of the seawater sample are known.

If the closed system is opened and equilibrated with the partial pressure of CO_2 in the atmosphere, the measurement of the final pH reached by the system allows calculation of the distribution of carbonate species, using equations (8) to (11). Total alkalinity and borate alkalinity can be calculated from equation (7). If x represents the number of moles of CO_2 exchanged with the atmosphere and y the number of moles of calcium carbonate dissolved or precipitated we have

$$A_c = A_c^c + 2y \quad \text{and} \quad (16)$$

$$\Sigma_{\text{CO}_2} = \Sigma_{\text{CO}_2}^c + y + x, \quad (17)$$

where the superscript c refers to the conditions previously reached in the closed system. The evaluation of A_c and Σ_{CO_2} after opening the system permits calculation of y and x .

Open System

The calculations in the open system are much simpler. Equations (8) to (12) give from a simple pH measurement and P_{CO_2} the distribution of carbonate species, carbonate alkalinity, total alkalinity and total dissolved CO_2 . The measurement of total alkalinity may be used as a control.

The change of carbonate alkalinity (equation 14) gives directly the amount of carbonate precipitated or dissolved.

Acknowledgments

This work was supported by NSF Grant EAR76-12279. We thank Michelle Loijens and Jane Schoonmaker for help in the laboratory and for meticulous checking of calculation procedures and results. Mrs. Virginia Paterson drafted the figures.

ACTIONS CONCERTÉES EN OcéANOGRAPHIE

RAPPORT D'ACTIVITÉ

1978

ANNEXE N° 15

Dissolved aluminium in interstitial water of recent marine sediments

NOTE

Dissolved aluminium in interstitial waters of recent marine sediments

SERGE CASCHETTO and ROLAND WOLLAST

Laboratoire d'Océanographie, Université Libre de Bruxelles, Av. F. Roosevelt, 50, Bruxelles 1050, Belgium

(Received 24 April 1978; accepted in revised form 1 November 1978)

55484

Abstract—Measurements of the concentration and vertical distribution of dissolved aluminium and silica, and of pH, in interstitial waters of recent marine sediments from the North Sea and the Mediterranean Sea were performed to evaluate the behaviour of aluminium during early diagenesis. The results suggest that thermodynamic equilibria alone do not control the concentrations of dissolved species in the system $\text{Al-Si-O}_2\text{-H}_2\text{O}$ during early diagenesis. Rather, these concentrations are governed by dynamic factors involving mineral dissolution-precipitation reactions and diffusion.

INTRODUCTION

Knowledge of the concentration and distribution of dissolved aluminium (Al_{aq}) in natural waters has improved substantially since the development of Al fluorimetric method.

In the case of seawater, the vertical distribution of Al_{aq} in the water column strongly suggests the importance of the planktonic activity on the removal of Al from the oceanic system (MACKENZIE *et al.*, 1978; CASCHETTO and WOLLAST, to be published). The behaviour of Al_{aq} in estuarine environments is still a matter of controversy (HOSOKAWA *et al.*, 1970; HYDES and LISS, 1977).

To our knowledge, there are no data available on the distribution of Al_{aq} in the interstitial waters of marine sediments. However, to understand the geochemical cycle of Al and processes involved in the early diagenesis of clay minerals, it is necessary to know the concentration, distribution, and mineral sinks and sources of Al_{aq} in marine sediments.

This brief contribution provides some preliminary results from coastal marine sediments concerning these factors.

METHODOLOGY

General

Five cores were collected, two from the Mediterranean Sea and three from the North Sea. The Mediterranean cores 57-2 and 94 were obtained using a gravity corer about 2.7 km offshore of Calvi (Corsica) at depths of 57 and 94 m. The core sediments consist principally of medium-grained, quartzo-feldspathic sand containing accessory biotite, calcareous tests, siliceous sponge spicules and numerous remains of marine phanerogams. Cores 19 and 32 were taken in the Fladden Ground of the North Sea ($58^{\circ}25'5''\text{N}$, $00^{\circ}02'0''\text{E}$ and $58^{\circ}50'3''\text{N}$, $00^{\circ}41'4''\text{E}$) at depths of 135 and 140 m by means of a box-corer during cruise 54-6 of the *Knorr* ("FLEX" program). These sediments are medium-grained sands. Glacial pebbles are recognizable in core 32. The third North Sea core was collected by Belgian Navy divers about 1.8 km offshore of the Belgian Coast at a depth of 10 m (Station M1149). It is characterized by a very fine, dark muddy sand. No laminations are present in the five cores.

Core 57-2 was sliced immediately after collection on board ship, and then stored in sealed polyethylene bags for 3 hr at 10°C . The interstitial waters were extracted from the sediments using a PVC 'squeezer' by pressure filtration through a $0.45\text{ }\mu\text{m}$ Millipore[®] filter under 3 bar of nitrogen. Cores 19, 32, 94, and M1149 were frozen immediately after collection. The interstitial waters of cores 19, 32 and 94 were later extracted following the above procedure. Waters from core M1149 however, were removed from the sediments by centrifugation and subsequent filtration. In all cases, the pore waters were extracted at the *in situ* temperatures of collection. Frozen cores were thawed overnight at the *in situ* temperature before treatment.

Analytical procedures

Interstitial waters were analyzed for dissolved silica by absorption spectrophotometry (Technicon Auto-Analyzer, Methodology 186-72W) and for dissolved aluminium by fluorescence spectrophotometry of the Al-lumogallion complex (NISHIKAWA *et al.*, 1967; SHIGEMATSU *et al.*, 1970; HYDES and LISS, 1976), using the method of Al increments. In all the pore waters we analyzed, this Al incremental calibration was able to prevent the problems involving interferences owing to F , SO_4^{2-} , Fe and dissolved organic matter as previously shown by HYDES and LISS (1976). However, if sediments contain much organic matter, it must be photo-oxidized (1000W u.v. Hanovia lamp) prior to the Al_{aq} analysis, as was done in the case of core M1149.

The practical detection limit of the Al-lumogallion method was found to be $0.003\text{ }\mu\text{mole Al l}^{-1}$. From five independent analyses of a seawater containing $0.078\text{ }\mu\text{mole Al l}^{-1}$, we obtained an estimated standard deviation of $0.003\text{ }\mu\text{mole Al l}^{-1}$.

To determine the effect of storage on Al_{aq} determinations, a duplicate analysis of Al_{aq} was performed on the interstitial waters of core 57-2 after storage of the waters for 10 days at 7°C (Fig. 2). After storage most of the water samples exhibited a decrease in Al_{aq} but the general shape of the vertical concentration gradient of Al_{aq} was maintained.

HYDES and LISS (1976) investigated variations in the amount of Al_{aq} detected by this fluorimetric method in clay suspensions of various concentrations and in natural waters which were filtered through different pore size mem-

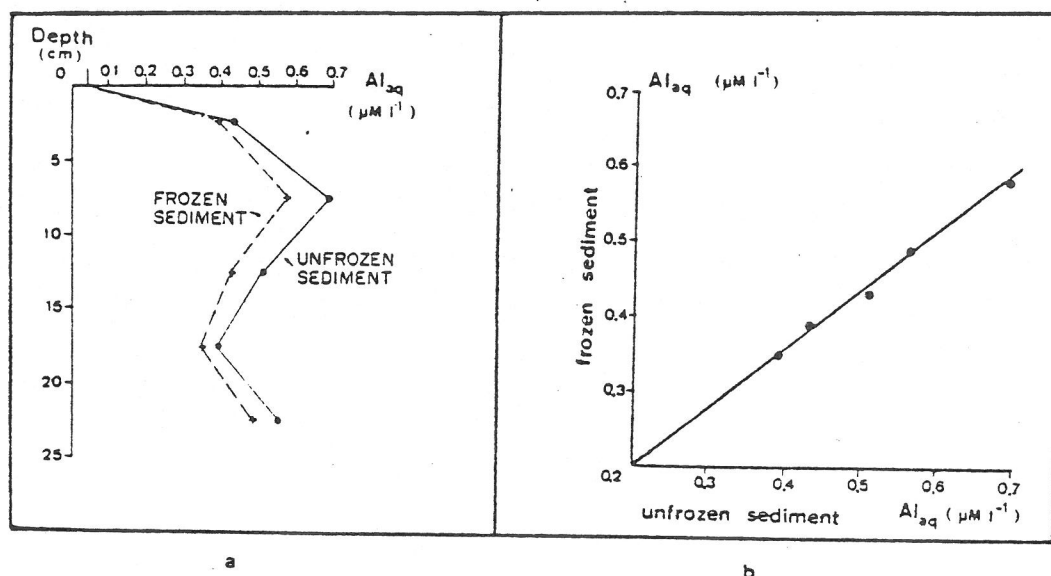


Fig. 1. Al_{aq} concentration in interstitial waters of sediments collected in an artificial lagoon on the Belgian Coast: (a) comparison between the vertical distribution in interstitial waters squeezed from the unfrozen sediment (●) and the vertical distribution in interstitial waters squeezed from frozen sediment (+); (b) plot of the values from unfrozen sediment versus those from frozen sediment. The slope of the line through the points is 0.87.

branes. They were able to show that dissolution of clay material passing through the filters does not occur during the analytical treatment of samples and that only very small amounts of Al adsorbed on particles passing through the filters are detected by this technique. They concluded that this method is a very reliable measurement of the dissolved aluminium species. Therefore, the Al_{aq} concentrations presented in this paper represent total dissolved aluminium or at least the total sum of reactive Al species such as those involved in chemical reactions with aluminosilicates.

Effect of freezing

To determine the effect of freezing on the analysis of Al_{aq} in sediment pore waters, two 25 cm cores composed of homogeneous, grey, medium-grained, quartzose sand containing calcareous tests of molluscs (from 0 to 20 cm), and of compact, black mud (from 20 to 25 cm) were collected in an artificial lagoon on the Belgian Coast. The cores were taken within 50 cm of each other. From one of the cores, pore waters were extracted soon after collection by pressure filtration, and then stored at 5°C prior to analysis of Al_{aq} by the fluorimetric method. The second core was sliced into 5 cm sections which were stored frozen in sealed polyethylene bags for 4 days. After thawing overnight at the *in situ* temperature of collection, the pore waters were extracted from the sediments by pressure filtration and stored at 5°C prior to Al_{aq} analysis.

Figure 1a shows the Al_{aq} concentrations obtained for the pore waters extracted from these frozen and unfrozen sediments. The data show that in this case freezing of sediments prior to analysis of the pore waters for Al_{aq} results in about a 13% decrease in the original Al_{aq} concentrations. This conclusion is based on the assumption that the pore waters of the frozen and unfrozen sediments had the same original Al_{aq} concentrations at similar core depths under *in situ* conditions.

Furthermore, the shape of the vertical concentration gradient of Al_{aq} in pore waters from both the frozen and unfrozen sediments is very similar (Fig. 1a). Thus, it appears that although sediment freezing may affect Al_{aq} concentrations in interstitial waters, the shape of the concentration profile of Al_{aq} may not be significantly altered by freezing. Also, it appears that in these experimental cores,

the absolute decrease in Al_{aq} concentrations because of freezing is linearly related to original Al_{aq} concentrations (Fig. 1b).

Freezing of extracted interstitial waters however, does not seem to significantly affect Al_{aq} concentrations. Pore waters were obtained by pressure filtration from a 32 cm core collected in the Mediterranean Sea. The waters before and after freezing and thawing were analyzed for Al_{aq} . The results (Table 1) show that differences in Al_{aq} concentrations for waters at similar depths analyzed before and after freezing and thawing are in the range of analytical error.

In summary, although freezing of sediments before extraction of pore waters does significantly reduce Al_{aq} concentrations, the effect is not large enough to invalidate the conclusions drawn later in this paper.

RESULTS AND DISCUSSION

As has been reported for several other dissolved species, the concentration of Al_{aq} in the interstitial waters of sediments is considerably higher than in the overlying water (Figs. 2-6). The concentration of Al_{aq} in pore waters may attain values 3-30 times its concentration in bottom waters.

Furthermore, the shape of the Al_{aq} concentration gradients in interstitial waters near the sediment-water interface implies a flux of Al_{aq} from the sediments to the overlying water column. This flux may be responsible for the relatively high Al_{aq} values observed in deep seawater.

Table 1. Al_{aq} concentration in interstitial waters extracted from the sediments of a core collected in the Mediterranean Sea (Corsica). Comparison between the values measured before and after freezing of the interstitial waters

Depth (cm)	Al_{aq} ($\mu mole l^{-1}$)		% relative change
	Before freezing	After freezing	
0-10	0.39	0.35	5
10-20	1.02	1.96	5
20-32	0.80	0.53	5

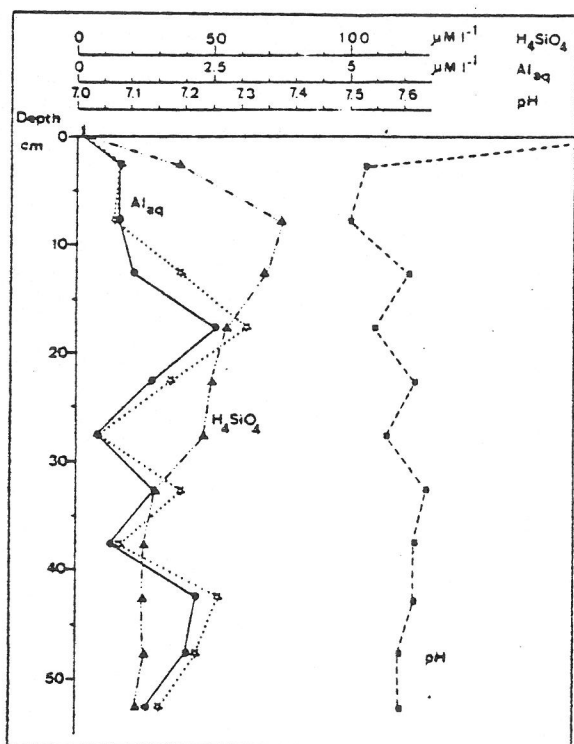


Fig. 2. Vertical distribution of dissolved silica (▲), Al_{aq} (●) concentrations, and pH (■) in the interstitial waters of core 57-2 sediments (Mediterranean Sea, Corsica). Duplicate analyses of Al_{aq} (●) were achieved on stored waters (see text).

(MACKENZIE *et al.*, 1978; CASCHETTO and WOLLAST, to be published).

The concentration of Al_{aq} in the interstitial waters of Mediterranean Sea sediments offshore of Corsica is greater than in waters extracted from North Sea sediment cores.

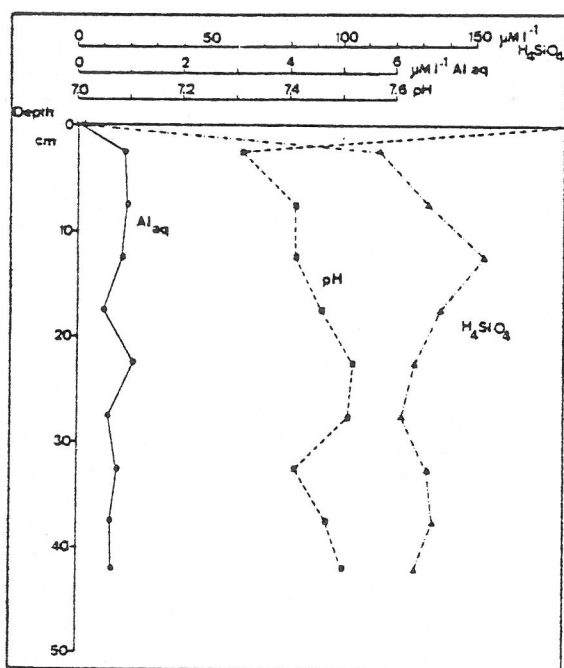


Fig. 3. Vertical distribution of dissolved silica (▲), Al_{aq} (●) concentrations, and pH (■) in the interstitial waters of core 94 sediments (Mediterranean Sea, Corsica).

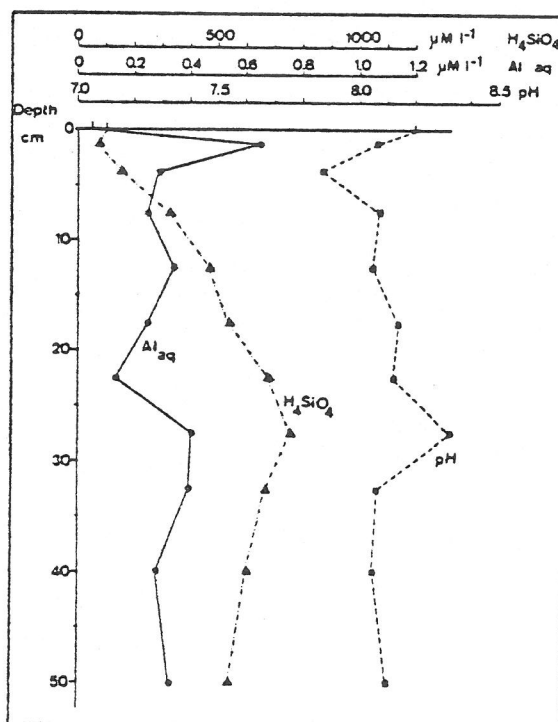


Fig. 4. Vertical distribution of dissolved silica (▲), Al_{aq} (●) concentrations, and pH (■) in the interstitial waters of core M1149 sediments (North Sea, Belgian Coast).

The concentration of Al_{aq} in pore waters of core 94 from the Mediterranean Sea (Fig. 3) shows a nearly constant value of about $1 \mu\text{M l}^{-1}$ at depths greater than 2.5 cm, whereas core 57-2 (Fig. 2) from the same area exhibits distinct vertical variations in its Al_{aq} content. This vertical variation ranges from about 0.1 to $2.6 \mu\text{M l}^{-1}$. In contrast, the concentration of Al_{aq} in pore waters from North Sea sediments ranges from <0.1 to about $0.7 \mu\text{M l}^{-1}$ (Figs. 4-6).

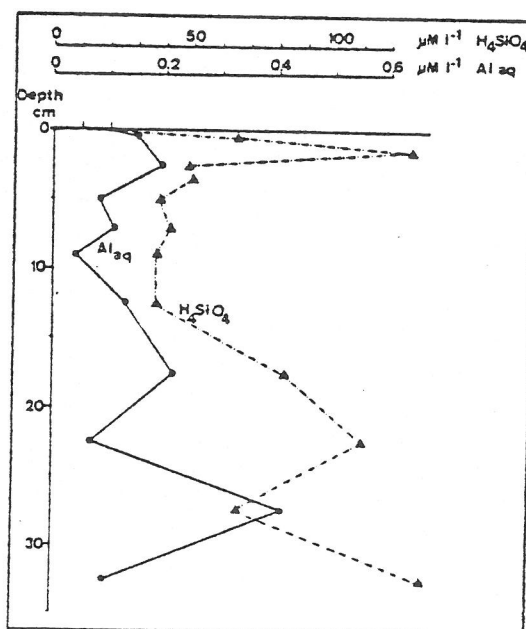


Fig. 5. Vertical distribution of dissolved silica (▲) and Al_{aq} (●) concentrations, in the interstitial waters of core 19 sediments (North Sea, Fladen Ground).

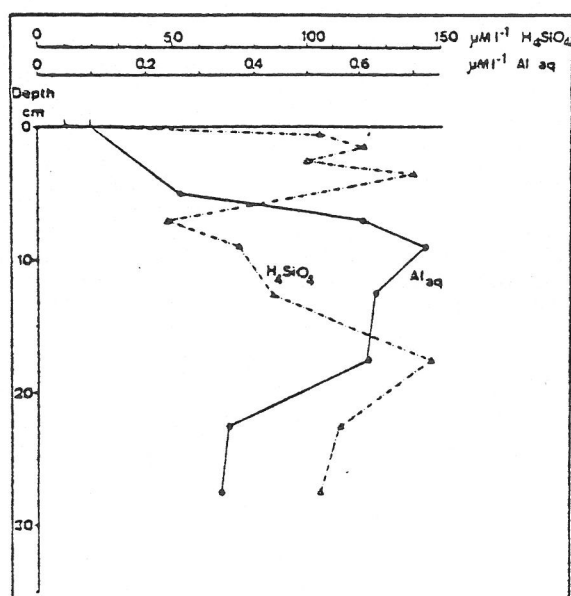


Fig. 6. Vertical distribution of dissolved silica (▲) and Al_{aq} (●) concentrations in the interstitial waters of core 32 sediments (North Sea, Fladden Ground).

We compared the pore water results for Al_{aq} with the aluminium concentrations obtained by HYDES (1977) during laboratory dissolution experiments of kaolinite, fireclay and montmorillonite in seawater. After four months at final pHs and H_4SiO_4 concentrations of 7.35–8.1 and 43–207 $\mu\text{mole l}^{-1}$, respectively, Hydes found Al_{aq} concentration values ranging from 0.1 to 0.3 $\mu\text{mole Al l}^{-1}$. In one experiment with montmorillonite at pH of 7.35, the Al_{aq} concentration was only 0.05 $\mu\text{mole Al l}^{-1}$. This range of Al_{aq} concentrations is comparable to the range of concentrations observed in the North Sea sediment pore waters. Therefore, it is possible that Al_{aq} in these sediments is controlled by reactions involving clay minerals. However, the Al_{aq} concentrations in the pore waters of Mediterranean sediments are one order of magnitude higher than the experimental concentrations observed by Hydes.

Ion activity products (IAP) for aluminium hydroxides were calculated for the interstitial waters and compared with equilibrium constants (K) for mineral dissolution-precipitation reactions. No consistent relationship was found to exist between IAP s and equilibrium constants. Indeed, in the case of cores M1149 and 94, the concentration of Al_{aq} in the interstitial waters of these sediments is 5–30 times less than that required for equilibrium with aluminium hydroxides at the observed pH values. Also, there is no consistent IAP as one should expect if the concentration of the dissolved species are controlled by an equilibrium with clay minerals or other aluminosilicates.

The lack of any consistent relationship between IAP s and equilibrium constants for minerals may be due to the following reasons:

1. During early diagenesis dissolved silica in pore waters attains a steady-state concentration rather than a true

chemical equilibrium concentration. The stationary value results from the competition between the dissolution of biogeneous amorphous silica and uptake of dissolved silica by silicates (WOLLAST, 1974).

2. The mineral assemblage is extremely complex and several aluminosilicates may compete in the release and uptake of dissolved species.

3. As pointed out recently by LIPPMANN (1977), description of the aqueous equilibrium solubility of clay minerals such as illite, montmorillonite or interstratified intermediate, requires the use of up to five partial solubility products. Therefore, it is unlikely that these minerals form in nature under equilibrium conditions.

Acknowledgements—We are grateful to the Woods Hole Oceanographic Institution and to Professor T. C. JOHNSON for inviting us on the 54-6 Knorr cruise. The Mediterranean cores were collected on board of the *RV Recteur Duhuissou* of the STARESO (Calvi).

We are indebted to Professor F. T. MACKENZIE for his critical revision of the manuscript. We thank Professor J. W. MORSE for his suggestions in reviewing this paper.

Pore waters of core 57-2 were collected and measured for Al in collaboration with Mr. M. STOFFYN. Mrs. N. DEBOUGE ensured analytical support with her usual efficiency.

REFERENCES

- CASCHETTO S. and WOLLAST R. to be published Vertical distribution of dissolved aluminium in the Mediterranean Sea. *Mar. Chem.*
- HOSOKAWA I., OSHIMA F. and KONDO N. (1970) On the concentrations of the dissolved chemical elements in the estuary of the Chikugogawa River. *J. Oceanogr. Soc. Jap.* 26, 1–5.
- HYDES J. D. (1977) Dissolved aluminium concentration in sea water. *Nature* 268, 136–137.
- HYDES J. D. and LISS P. S. (1976) Fluorimetric method for the determination of low concentrations of dissolved aluminium in natural waters. *Analyst* 101, 922–931.
- HYDES J. D. and LISS P. S. (1977) The behaviour of dissolved aluminium in estuarine and coastal waters. *Est. Coastal Mar. Sci.* 5, 755–769.
- LIPPMANN F. (1977) The solubility products of complex minerals, mixed crystals, and three-layer clay minerals. *Neues Jahrb. Mineralog. Abh.* 130, 243–263.
- MACKENZIE F. T., STOFFYN M. and WOLLAST R. (1978) Aluminium in seawater: control by biological activity. *Science* 199, 680–682.
- NISHIKAWA Y., HIRAKI K., MORISHIGE K. and SHIGEMATSU T. (1967) Fluorophotometric determination of aluminium and gallium with lumogallion. *Japan Analyst* 16, 692–697.
- SHIGEMATSU T., NISHIKAWA Y., HIRAKI K. and NAGANO N. (1970) Fluorometric determination of trace amount of aluminium in natural water by lumogallion method: masking of ferric iron with O-phenanthroline. *Japan Analyst* 19, 551–555.
- WOLLAST R. (1974) The silica problem. In *The sea*, Vol. 5 (ed. E. D. Goldberg), pp. 359–392. Wiley.

