

D 03356

Université Libre de Bruxelles

Faculté des Sciences

Etude et modélisation
de la production phytoplanctonique
dans l'estuaire de l'Escaut

Dissertation présentée par

Xavier Desmit

en vue de l'obtention
du grade de Docteur en Sciences

2005

Université Libre de Bruxelles



003313180

312105

Université Libre de Bruxelles

Faculté des Sciences

Etude et modélisation
de la production phytoplanctonique
dans l'estuaire de l'Escaut

Dissertation présentée par

Xavier Desmit

en vue de l'obtention
du grade de Docteur en Sciences

2005

Allégorie

Sable blanc pour marée verte
elle n'a pas compté les cheveux du vent
elle s'est fait une robe changeante
de l'eau amère qui nous ressemble
de pierres de linges et de vaisseaux
d'appels de charmes et de défaites
et jusqu'au faîte
d'un arbre changeant comme sa robe d'années
elle monte elle monte de toute éternité

Paul Nougé, extrait de *Fragments*

Remerciements

Je remercie sincèrement le professeur Michel Verbanck de m'avoir accueilli dans son laboratoire, et d'avoir mis à ma disposition les outils nécessaires à l'accomplissement de ce travail de thèse. Je le remercie également pour la confiance et la patience qu'il m'a adressées durant ce marathon scientifique.

Mes remerciements et ma gratitude vont également à feu le professeur émérite Roland Wollast dont les idées et l'expérience ont permis la mise en place et la réalisation de ce projet de thèse. Je garde d'excellents souvenirs de sa compagnie, de nos discussions, et de nos quelques confrontations scientifiques.

Naturellement, ma reconnaissance grand format va à Jean-Pierre Vanderborght pour sa collaboration efficace, sa rigueur exemplaire, et toutes ses autres qualités scientifiques dont j'ai retiré un bénéfice inestimable. Je le remercie chaleureusement pour l'inconcevable soutien qu'il m'a généreusement prodigué durant ces années de réflexion et de recherche (entre autres sur le verre magnétique). Après cela, il deviendrait *quasi* pléonastique de le remercier pour la disponibilité et la bonne humeur dont il a fait preuve à mon égard, et à l'égard de mes équations.

La liste exhaustive des coups de mains, services, conseils, et dépannages desquels je suis redévable remplirait des volumes... de beaux livres écrits par Michèle Loijens, Didier Bajura, Nicolas Canu, Lei Chou, Pierre Wollast, Vincent Carbonnel, Jérôme Harley, Bénédicte Pasquer, Nathalie Roevros, Arielle Fall-Cornette, Alberto Borgès, Victor Martinez, Stéphane De Beer, Bénédicte Bastin, Misha Versaen, l'équipe du Belgica...

C'est encore Michèle Loijens et Didier Bajura que je remercie tout spécialement pour les combats *alter-scientifiques* et courageux qu'ils mènent pour améliorer le statut des chercheurs, et des travailleurs de l'ULB.

J'adresse ma gratitude au professeur Christiane Lancelot pour ses conseils efficaces, et pour avoir mis à ma disposition les ressources bibliographiques de son laboratoire.

Ma reconnaissance va également à Pierre Regnier, Anthony Glinoer, Jérôme Harley, Vincent Carbonnel, Nicolas Vansteenkiste et Koenraad Muylaert pour le bénéfice que m'ont apporté les discussions que nous avons eues.

Je remercie le professeur Andrée Kirsch-De Mesmaeker et le professeur Lei Chou d'avoir généreusement accepté de constituer mon comité de thèse avec le professeur Michel Verbanck.

Ma reconnaissance va bien entendu aux organismes de financement, le FRIA et la Fondation David et Alice Van Buuren, qui entre autres qualités ont celle d'alléger le labeur administratif du bénéficiaire, ce qui force le respect. Par ailleurs, je renouvelle ma gratitude envers Cécile Moucheron et envers l'ULB pour le contrat d'enseignement qui m'a permis, entre autres avantages, de renouer avec les mécanismes passionnantes de la chimie organique.

Merci à Suzuki d'avoir produit mon Pot de Yaourt, une véritable institution mobile qui a tenu durant toutes ces années contre la pluie et le vent... en fait, juste contre le vent.

Les potes, bien sûr.

Et par-dessus tout, Agnès qui m'a inlassablement supporté, engueulé, conseillé, câliné, et encouragé selon le cycle immuable, et avec la ferveur d'une petite étoile.

Résumé

Dans l'estuaire turbide et bien mélangé de l'Escaut, la production phytoplanctonique nette est contrôlée par l'interaction entre la disponibilité lumineuse et la profondeur d'eau, toutes deux variables dans le temps. En tenant compte de cette interaction à l'échelle sub-tidale, on peut montrer qu'une production phytoplanctonique nette positive prend place dans des régions de haute turbidité, pour autant que la dynamique du rapport profondeur euphotique: profondeur de mélange l'autorise. La distribution de la chlorophylle *a* dans l'estuaire peut être expliquée à partir de cette hypothèse. On montre que l'activité du phytoplancton n'influence pas beaucoup les bilans d'oxygène dissous, ni d'azote inorganique, ni de matière organique dans l'estuaire en comparaison de l'activité bactérienne (hétérotrophe, nitrifiante et dénitrifiante). Toutefois, cela peut changer avec l'amélioration de la qualité des eaux attendue dans un futur proche (horizon 2010). En revanche, le cycle de la silice est fortement soumis à l'activité des diatomées. Une description précise de la dynamique des diatomées sur l'axe longitudinal de l'estuaire et dans la zone côtière est nécessaire pour modéliser la distribution temporelle et longitudinale de la silice dissoute. Les travaux futurs devraient inclure une meilleure compréhension des processus de photoacclimatation et de photoinhibition dans la colonne d'eau. La modélisation devrait à terme inclure explicitement le grazing par le zooplancton, et tenir compte d'au moins une espèce phytoplanctonique supplémentaire (marine non-diatomée).

Abstract

In the well-mixed Scheldt estuary, the net phytoplankton production is controlled by the interaction between light availability and water depth, both of which are time-varying at the tidal scale. When taking this interaction into account at the hourly timescale, a positive net phytoplankton production is shown to take place in areas of high turbidity, as long as the dynamics of the euphotic to mixing depth ratio allows it. The distribution of chlorophyll *a* in the estuary may be explained from this hypothesis. It is shown that phytoplankton activity does not affect much the estuarine balance of dissolved oxygen, nor nitrogen species, nor organic matter in comparison with bacterial activity (heterotrophic respiration, nitrification and denitrification). However, this may change with future improvements of the water quality. In contrast, dissolved silica is strongly affected by diatoms production. An accurate description of diatoms dynamics along the estuary and in the coastal zone is required to model the longitudinal and temporal profiles of dissolved silica. Future research should include a better understanding of photoacclimation and photoinhibition processes. Eventually, modeling should include the grazing by zooplankton, and take into account at least another phytoplankton species (marine non-diatom).

Table des Matières

Chapitre 1: Introduction générale	1
1.1 Production primaire du phytoplancton	2
1.2 De l'incubateur à l'écosystème	3
1.3 L'estuaire de l'Escaut	3
1.4 Facteurs limitants et facteurs de contrôle	5
1.5 Objectifs de ce travail	6
Chapitre 2: Matériel et méthodes	9
2.1 Stratégie d'échantillonnage	9
2.1.1 Campagnes de mesure	9
2.1.2 Paramètres mesurés	11
2.2 Paramètres physiques	11
2.2.1 Température et salinité	11
2.2.2 Matières en suspension et profondeur de Secchi	12
2.3 Paramètres chimiques	12
2.3.1 pH, alcalinité totale et carbone inorganique dissous	12
2.3.2 Oxygène dissous	13
2.3.3 Nitrates et nitrites	14
2.3.4 Ammonium	17
2.3.5 Silice inorganique dissoute	20
2.3.6 Orthophosphates dissous	21
2.4 Paramètres biologiques	23
2.4.1 Production phytoplanctonique	23
2.4.2 Chlorophylle <i>a</i> et phaeopigments	30
2.4.3 Consommation communautaire d'oxygène dissous au noir	34
Chapitre 3: Biogéochimie de l'estuaire de l'Escaut	35
Introduction	35
3.1 Aspects physiques	36
3.1.1 Salinité	36
3.1.2 Température	38
3.1.3 Turbidité et matières en suspension	39
3.2 Aspects chimiques	42
3.2.1 Les nitrates et les nitrites	42
3.2.2 L'azote ammoniacal	44
3.2.3 L'azote inorganique total	44
3.2.4 DIC, pH et alcalinité totale	45
3.2.5 Les phosphates	48
3.2.6 La silice dissoute	49
3.2.7 Consommation des nutriments par le phytoplancton	50
3.3 Production nitrifiante	51

3.4	Production phytoplanctonique	52
3.4.1	Chlorophylle <i>a</i> et phaeopigments	52
3.4.2	Variabilité des paramètres photosynthétiques	56
3.4.3	Production primaire intégrée et croissance	59
3.4.4	Production phytoplanctonique dissoute	63
3.5	Oxygène dissous et sa vitesse de consommation	64
3.6	Conclusions	65
<i>Planches A-H</i>		
<i>Planche Si</i>		
Chapitre 4 : Production primaire du phytoplancton: définitions et mécanismes		67
Introduction		67
4.1	Commentaires sur les définitions	68
4.1.1	Photosynthèse	68
4.1.2	Production primaire du phytoplancton	69
4.1.3	Production brute et production nette	70
4.1.4	La question des échelles	71
4.1.5	Définitions de la littérature	72
4.1.6	Production et productivité	76
4.1.7	Vers une définition "non nova, sed nove"	78
4.1.8	Conclusion	80
4.2	Mécanismes cellulaires	81
4.2.1	Photosynthèse de précurseurs organiques	81
4.2.2	Photoacclimatation du phytoplancton	85
4.2.3	Respiration algale	86
4.2.4	Excrétion	87
Chapitre 5 : Kinetics of ^{14}C incorporation by phytoplankton in a light gradient		89
Résumé / Abstract		89
5.1	Introduction	90
5.2	Materiel and methods	91
5.3	Kinetics of ^{14}C incorporation	92
5.4	Modelling hypothesis	93
5.5	Model equations	96
5.6	Results and discussion	98
5.7	Conclusions	105
Aknowledgements		106

Chapitre 6 : Spécificités du système estuaire : impact sur la modélisation de la croissance phytoplanctonique	107
Introduction	107
6.1 Incorporation de carbone au noir par le phytoplancton	108
6.1.1 Introduction	108
6.1.2 Matériel et méthode	108
6.1.3 Résultats et discussion	109
6.2 Effet de la salinité sur la production primaire	110
6.2.1 Introduction	110
6.2.2 Matériel et méthode	111
6.2.3 Résultat	111
6.3 Grazing du phytoplancton par le zooplancton	112
6.3.1 Introduction	112
6.3.2 Matériel et Méthodes et discussion	113
6.3.3 Résultats et discussion	113
6.3.4 Conclusion	115
6.4 Resuspension de la chlorophylle <i>a</i> au cours du cycle tidal	116
6.4.1 Introduction	116
6.4.2 Modélisation de la resuspension de la chlorophylle <i>a</i>	117
6.4.3 Conclusion	120
Chapitre 7 : Control of phytoplankton production by physical forcing in a strongly tidal, well mixed estuary	123
Résumé / Abstract	123
7.1 Introduction	124
7.2 Model description	125
7.3 Forcing conditions	131
7.4 Dynamics of phytoplankton growth	138
7.5 Conclusions	144
Aknowledgements	145
Chapitre 8 : Distribution spatio-temporelle du phytoplancton dans l'estuaire de l'Escaut : résultats d'un modèle bi-dimensionnel de transport-réaction	147
Introduction	147
8.1 Présentation générale du modèle	148
8.1.1 Partie hydrodynamique	148
8.1.2 Processus biogéochimiques	149
8.2 Module phytoplanctonique	150
8.2.1 Choix d'une espèce	150
8.2.2 Calcul de la production brute intégrée sur la profondeur	151
8.2.3 Calcul de la production phytoplanctonique nette	154
8.2.4 Interaction entre la production, les nutriments et l'O ₂ dissous	155
8.3 Résultats et discussion	156

8.3.1	Comparaison avec les résultats de modélisation	156
8.3.2	Production et biomasse phytoplanctoniques	157
8.3.3	Sensibilité des variables au changement des paramètres PE	160
8.3.4	Perspective « passé-présent-futur »	164
8.3.5	Bilans et apports vers la zone côtière	166
8.4	Conclusions	170
Chapitre 9 : Conclusions générales		173
Summary and conclusions		179
Bibliographie		185

Chapitre 1

Introduction générale

Le bassin versant de l'Escaut (21580 km²) couvre l'une des régions les plus densément peuplées d'Europe, où l'activité industrielle s'est largement développée et diversifiée. Sous la pression anthropogénique, l'apport excessif de substances nutritives (N et P) provoque l'eutrophisation des eaux. Celle-ci se manifeste par une croissance importante d'algues phytoplanctoniques qui entraîne trop souvent une baisse de la qualité des eaux (Billen 1990; Justic et al. 1995; Lancelot et al. 1997). Après leur mort, les organismes phytoplanctoniques sont dégradés par les bactéries hétérotrophes qui décomposent la matière organique en consommant l'oxygène dissous dans l'eau. La surproduction algale alimentant la surconsommation bactérienne, les eaux sont rapidement appauvries en oxygène dissous, et le jeu des transformations biogéochimiques s'en trouve déséquilibré (Stafford et al. 1980; Abril et Frankignoulle 2001).

La diminution de la concentration en oxygène dissous modifie l'état d'oxydo-réduction de la colonne d'eau, et par conséquent certains processus peuvent être localement supprimés (e.g. le grazing par le zooplancton, Kromkamp et Peene 1995), tandis que d'autres processus se développent (e.g. la dénitrification, Vanderborgh et al. 2002). A un stade plus critique, des organismes dont l'activité est habituellement inhibée par l'oxygène, peuvent se développer grâce à des processus tels que la méthanogenèse (Stafford et al. 1980) ou la sulfatoréduction (Abril et Frankignoulle 2001). En l'absence d'oxygène dissous et en présence de méthane ou de sulfure d'hydrogène, la qualité de l'eau s'effondre et limite ainsi la biodiversité dans le système. Le remplacement d'une série de processus biologiques par d'autres conditionne de manière cruciale la transformation des espèces chimiques et biologiques qui traversent l'estuaire.

La quantification des processus à l'oeuvre dans l'Escaut permettraient, d'une part, de mieux gérer la qualité de l'eau de l'estuaire, et d'autre part, de mieux contrôler les apports de matières organiques et inorganiques vers la Mer du Nord. Outre la préservation d'un

écosystème sain, les enjeux liés à la qualité de l'eau en tant que ressource surgissent également de façon de plus en plus pressante dans les agendas politique et économique (voir EC Directive 91/271/EEC, 21 May 1991; Directive Cadre Eau 2000/60/CE, 23 October 2000). Parmi ces enjeux, on compte dans le désordre, l'utilisation industrielle de l'eau dans les circuits de refroidissement (voir par exemple, Kovalak et al. 1993), l'exploitation de l'estuaire pour la navigation, la qualité de vie des riverains, l'utilisation de l'eau comme ressource récréative, etc.

1.1 La production primaire du phytoplancton

Sans chercher à la définir précisément à ce stade, la production primaire du phytoplancton est la photosynthèse de matière organique et d'oxygène par le phytoplancton à partir de matières inorganiques et d'énergie lumineuse. Dès la deuxième moitié du dix-neuvième siècle, l'estimation de la production phytoplanctonique dans l'espace et dans le temps a constitué l'un des objectifs majeurs des océanographes (voir Barber et Hilting 2002). Un siècle plus tard, les travaux de Steemann Nielsen (1952) marquaient une étape dans l'évolution de l'océanographie en introduisant la méthode d'incorporation du ^{14}C : une technique permettant de déterminer la production primaire avec précision, sensibilité et efficacité. Malgré son essor rapide et la poursuite actuelle de son utilisation dans le monde entier, la méthode du ^{14}C n'est pas dénuée de problèmes, en particulier à cause de la complexité des organismes phytoplanctoniques et de leur faculté d'acclimatation aux conditions extérieures.

Dès le début des années nonante, avec l'arrivée de techniques de plus en plus performantes, Williams (1993b) remarque un déplacement d'intérêt depuis les problèmes d'échantillonnage et de manipulation vers ceux de l'interprétation des résultats en termes physiologiques. Depuis plus d'une quinzaine d'années, l'intérêt s'est en effet porté sur une série de mécanismes intracellulaires pouvant influencer l'interprétation des résultats de production phytoplanctonique, notamment: la respiration algale (Weger et al. 1989; Langdon 1993), l'excrétion (Mague et al. 1980; Otero et Vincenzini 2004), la photoinhibition (Platt et al. 1980; Melis 1999; Han 2002), la photoacclimatation (Geider et al. 1996; Behrenfeld et al. 2004), l'incorporation de nutriments (Claquin et al. 2002; Riebesell et Wolf-Gladrow 2002), la photorespiration (voir Geider et MacIntyre 2002), et plus récemment les mécanismes de concentration du carbone (Tortell et al. 1997; Reinfelder et al. 2000; Moroney 2002). Certains de ces mécanismes cellulaires offrent au phytoplancton la possibilité de s'acclimater rapidement aux variations des conditions

environnementales; on parle de la "plasticité" du phytoplancton face au changement (Zonneveld 1998).

1.2 De l'incubateur à l'écosystème

A cause de cette faculté d'acclimatation, notamment en réponse aux variations de la lumière, la réponse photosynthétique du phytoplancton peut être fort différente entre les conditions d'incubation statique (Mallin et Paerl 1992; Macedo et al. 2002) et celles prévalant dans un milieu naturel dynamique (Demers et al. 1986; Cullen et Lewis 1988; Lizon et Lagadeuc 1998). Une cellule de phytoplancton peut mettre trois jours pour traverser la couche photique à la marge océanique, où la profondeur euphotique est d'environ 50 mètres, mais seulement quelques minutes dans un estuaire, où la profondeur euphotique est de l'ordre de 2 mètres (MacIntyre et Geider 1996). Dans un tel milieu, les cellules de phytoplancton sont donc continuellement soumises à des conditions d'irradiance changeantes.

L'un des objectifs actuels est donc de fournir une description de la production phytoplanctonique qui tienne compte des mécanismes cellulaires (Lancelot et al. 1991; Geider et al. 1997; Zonneveld 1998; Han 2002; Behrenfeld et al. 2004). Le recours à la modélisation devient, par ailleurs, de plus en plus nécessaire, a fortiori parce que la production phytoplanctonique doit finalement être reliée à l'accroissement de la biomasse, si l'on veut étendre l'estimation aux plus grandes échelles d'espace et de temps (Banse 2002; Marra 2002). A ce sujet, Marra (2002) remarque la difficulté de rapporter les résultats d'incubation à la production journalière, en raison des incertitudes liées à la physiologie algale (i.e. la plasticité). Il en va de même entre les résultats recueillis à l'échelle saisonnière et la production journalière, car les incertitudes sont alors liées au rendement écologique. Ce faisant, Marra met le doigt sur un aspect fondamental du problème: l'estimation de la production phytoplanctonique à l'échelle du jour nécessite une bonne description, d'une part, des mécanismes intracellulaires, et d'autre part, des facteurs environnementaux qui affectent le phytoplancton.

1.3 L'estuaire de l'Escaut

L'estuaire de l'Escaut est un système fortement soumis aux marées, et qui présente un faible débit résiduel (débit moyen calculé sur un cycle de marée). On considère que les masses d'eau y sont relativement bien mélangées verticalement et latéralement (Wollast 1988). Durant le flot et le jusant, une partie des sédiments est remise en suspension dans

la colonne d'eau, en raison des vitesses de courant élevées au voisinage du fond. Couplée avec les apports de matières particulières et dissoutes (Postma 1980), l'accumulation et la remise en suspension des sédiments entretient une turbidité élevée dans l'estuaire, en particulier dans la région des eaux douces de l'amont. La faible pénétration lumineuse dans l'eau qui en résulte constitue le principal facteur limitant la production phytoplanctonique (e.g. Soetaert, Herman et al. 1994; Heip et al. 1995; Muylaert et al. 1997). Par ailleurs, les nutriments, que l'on trouve en surabondance dans l'estuaire, n'ont pour ainsi dire aucun effet limitant sur la production du phytoplancton. La silice dissoute fait exception puisqu'elle peut jouer un rôle limitant pour les diatomées en été. La question de la silice est d'autant plus cruciale que les diatomées forment l'espèce dominante dans l'estuaire de l'Escaut au cours de l'année, toutes saisons confondues (figure 1.1, Muylaert, Sabbe et al. 2000).

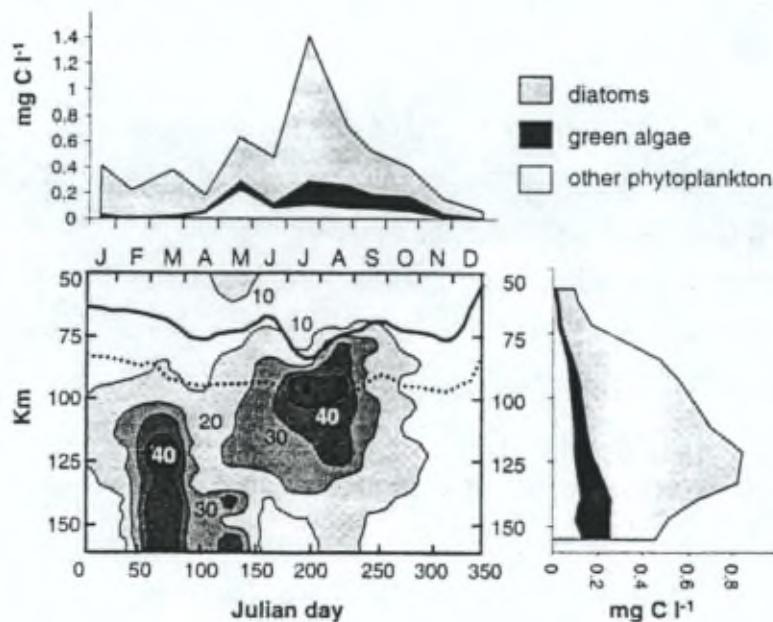


Figure 1.1: Variabilité spatio-temporelle de la concentration en chlorophylle *a* (en µg chl *a* l⁻¹, graphe de contours), et variations spatiale et temporelle (moyennées sur resp. tous les mois et toutes les stations) de la biomasse phytoplanctonique totale (en mg C l⁻¹). Les mois et jours de l'année sont indiqués le long de l'axe horizontal, tandis que la distance à l'embouchure est donnée sur l'axe vertical. Les positions des isohalines de salinité 0.5 et 5 (resp. ligne pointillée et ligne pleine) sont indiquées pour montrer la relation entre la distribution de la chlorophylle *a* et la salinité (Traduit de l'Anglais d'après Muylaert, Sabbe et al. 2000, avec la permission de l'auteur).

1.4 Facteurs limitants et facteurs de contrôle

D'autres facteurs environnementaux peuvent également influencer la production phytoplanctonique (e.g. le stress salin et la température), ou sa biomasse (e.g. le grazing par le zooplancton). Les mécanismes hydrodynamiques (transport, advection, mélange) et les perturbations du même type (non-stationarités hydrodynamiques générées par exemple par les crues ou les tempêtes) jouent aussi un rôle important sur l'activité du phytoplancton (Schuchardt et Schirmer 1991; Muylaert et al. 2001; Flöder et Burns 2004). Des crues fréquentes et modérées, par exemple, repoussent le plancton vers l'aval de façon intermittente. Elles peuvent favoriser la floraison algale en apportant de la silice, et elles peuvent défavoriser le grazing en raison de l'écart entre le développement du phytoplancton et celui du zooplancton (Muylaert et al. 2001). D'un autre côté, la propagation d'une crue importante aura un effet négatif sur la production, puisque dans ce cas les communautés autochtones sont chassées vers l'aval, et la formation d'une nouvelle population phytoplanctonique peut être lente en raison d'un inoculum insuffisant.

Par conséquent, la dynamique de la production phytoplanctonique dans l'estuaire, bien que notoirement liée au manque de lumière, nécessite une meilleure compréhension et de plus amples recherches. Certaines questions concernant la distribution longitudinale de la chlorophylle *a* dans l'estuaire restent d'ailleurs en suspens: comment peut-on observer dans un système si turbide des pics de chlorophylle *a* de presque deux ordres de grandeur supérieurs à ceux observés en mer ? Par ailleurs, comment expliquer la décroissance brutale de la concentration en chlorophylle *a* observée dans la région oligohaline de l'estuaire, alors que la turbidité diminue simultanément ? Il peut enfin sembler un peu paradoxal d'observer localement dans la région d'Anvers des concentrations élevées en chlorophylle *a*, de hautes turbidité et des minima de concentration en oxygène dissous. Ces questionnements semblent remettre en doute un éventuel contrôle de la production phytoplanctonique par la disponibilité de l'énergie lumineuse dans l'estuaire. Malgré son rôle crucial de limitation, la lumière n'est manifestement pas le seul facteur contrôlant la production primaire du phytoplancton dans l'estuaire.

L'étude d'un système complexe tel que l'estuaire de l'Escaut nécessite qu'on s'attache de façon globale à la reconnaissance et à l'observation d'une longue série de processus, qui font chacun l'objet de questions spécialisées. Ces processus se rassemblent pour la plupart en thèmes, parmi lesquels on trouve l'hydrodynamique du système (Regnier et al. 1998), le transport solide et la dynamique des matières particulières (Verbanck 2003; Verbanck 2004), la pénétration lumineuse dans l'eau (Kirk 1994), la photosynthèse et la production

phytoplanctonique (Falkowski et Raven 1997), l'interconversion des espèces azotées (Brion et al. 2000 ; Middelburg et Nieuwenhuize 2000; Ragueneau et al. 2002), les relations de compétition et de dépendance entre groupes biologiques (Tilman 1977; Heip et al. 1995; Muylaert, Van Mieghem et al. 2000), la biogéochimie du carbone et de l'oxygène (Frankignoulle et al. 1996; Borges 2001). Ces différents thèmes, lorsqu'ils sont identifiés, sont autant de leviers pour aborder des questions précises telles que celle qui se trouve au centre de ce travail :

Quels sont, dans l'estuaire de l'Escaut, les facteurs environnementaux qui contrôlent la production primaire du phytoplancton ?

1.5 Objectifs de ce travail

L'eutrophisation de l'estuaire de l'Escaut entraîne des floraisons algales importantes. Les concentrations en chlorophylle *a* observées durant l'été témoignent de la haute productivité du système estuarien. Pourtant, en raison de sa turbidité, l'estuaire paraît peu propice au développement des organismes phytoplanctoniques précisément là où on observe des biomasses importantes. Ce paradoxe est à l'origine du premier objectif de ce travail. Pour comprendre la problématique de la production primaire phototrophe, il faut cerner les mécanismes qui dirigent la croissance et la mortalité du phytoplancton. D'une manière générale, il s'agit pour nous d'identifier et de classer par ordre d'importance les principaux facteurs environnementaux qui affectent la production primaire dans l'estuaire de l'Escaut.

Le **chapitre 2** détaille les techniques classiques d'observation, ainsi que la stratégie que nous avons utilisées pour une première approche générale de la problématique.

Les caractéristiques biogéochimiques de l'estuaire de l'Escaut ont été observées et discutées à partir d'études expérimentales menée sur le terrain et en laboratoire. De nombreux facteurs environnementaux ont été examinés dans une perspective temporelle saisonnière, ainsi que dans l'espace à l'échelle de l'estuaire. Les résultats de ces analyses, ainsi que leur interprétation, sont présentés et discutés au **chapitre 3**. Cette première approche a permis de dégager des hypothèses générales sur les possibilités de croissance et de mortalité du phytoplancton dans l'estuaire de l'Escaut. Par ailleurs, elle révèle la nécessité de recourir à des expériences plus ciblées, et de faire appel à une meilleure compréhension de la notion de production primaire. En particulier, il s'agit de modéliser les mécanismes, tels que la respiration algale, qui permettent de relier la production brute à la production nette, et donc à l'accroissement de biomasse algale.

Dans le **chapitre 4**, nous nous sommes interrogé sur la définition et la signification des notions de « production primaire » brute et nette, et de « photosynthèse ». Ces interrogations ont éclairci la suite logique qui s'établit entre l'observation, l'interprétation et la modélisation de la production primaire. Nous avons rassemblé à partir d'une compilation de la littérature les mécanismes associés à la modélisation de la production phytoplanctonique pour une cellule-type.

Cette démarche nous a naturellement conduit à remettre en question l'interprétation de la mesure de la production primaire par la technique d'incorporation du carbone (^{14}C). Dans le **chapitre 5**, nous mettons en chantier les outils de modélisation pour interpréter d'un point de vue physiologique les résultats d'incorporation du ^{14}C par le phytoplancton. Le modèle présenté tient compte de la variation de la réponse photosynthétique en fonction de l'irradiance et du temps d'incubation, pour fournir une estimation de la production phytoplanctonique nette.

Toutefois, la croissance et la décroissance de la biomasse algale dans l'estuaire de l'Escaut ne dépendent pas que des mécanismes cellulaires. Il s'agit d'explorer plus finement l'impact sur les populations algales de certains facteurs environnementaux propres à un milieu turbide, eutrophe et bien mélangé. Différentes questions spécifiques à la croissance algale dans l'estuaire de l'Escaut sont abordées au **chapitre 6**.

Notre second objectif dans ce travail est de simuler, en recourant aux outils de modélisation, le comportement du phytoplancton à l'échelle macroscopique de l'estuaire en nous appuyant sur les hypothèses issues de notre travail expérimental. Il s'agit de faire appel au plus petit nombre de facteurs de contrôle environnementaux pour simuler le plus exactement possible la dynamique du développement algal dans l'estuaire de l'Escaut. Ce travail de modélisation doit ainsi compléter l'étude expérimentale en supportant, ou éventuellement en infirmant, les conclusions précédentes quant à la croissance et à la mortalité du phytoplancton.

Dans un premier temps, nos hypothèses sont testées sur un espace réduit qui simule une colonne d'eau dans l'estuaire de l'Escaut (**chapitre 7**). La production primaire phytoplanctonique est calculée au cours du temps dans un réservoir soumis à des variations de conditions environnementales typiques de l'estuaire.

Les principaux processus biogéochimiques ont ensuite été intégrés à un modèle bidimensionnel de transport-réaction appliqué à l'estuaire de l'Escaut entre Gentbrugge et l'embouchure. Les résultats des premières simulations sont exposés au **chapitre 8**.

Les conclusions générales reprennent la synthèse de notre dissertation au **chapitre 9**.

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

2.1 Stratégie d'échantillonnage

La première approche consiste en l'analyse d'une série de paramètres biogéochimiques, avec pour objectif d'identifier ceux qui peuvent influencer la production phytoplanctonique. La stratégie de mesure des paramètres se divise en deux phases: le suivi des évolutions temporelles à l'échelle saisonnière, et l'examen des évolutions spatiales selon l'axe longitudinal de l'estuaire.

2.1.1 Campagnes de mesure

Le suivi temporel a été effectué durant la période 1999-2000 en un point fixe avec une fréquence d'échantillonnage, tous paramètres confondus, d'environ deux par mois (quatre par mois en été). Les prélèvements ont toujours été effectués à l'étalement de marée basse afin de limiter les effets de transport liés à la marée. L'emplacement de Sint Anna à Anvers (km 80, voir figure 2.1) a été choisi comme lieu de prélèvement pour plusieurs raisons:

- L'endroit se situe approximativement à la limite de pénétration des eaux marines dans l'estuaire.
- Il est situé en aval du dernier affluent de l'Escaut, le Rupel (il faut noter que le canal Gand-Terneuze se déverse plus en aval, aux Pays-Bas).
- On y observe des concentrations élevées en chlorophylle *a* et en matières en suspension, ainsi qu'un déficit important en oxygène dissous.
- Le Service de Traitement des Eaux et Pollution y exploite une station de mesure automatique qui contrôle en continu l'évolution de plusieurs paramètres (température, salinité, turbidité, oxygène dissous, pH et alcalinité totale).



Figure 2.1: Carte de l'estuaire de l'Escaut et de ses affluents. Les cercles rouges marquent la distance (en km) par rapport à l'embouchure. Les niveaux de couleur du fleuve indiquent la bathymétrie du lit, le bleu foncé correspondant aux grandes profondeurs. LIS fait référence à la limite de l'intrusion saline dans l'estuaire, cette limite varie en fonction des marées et du débit d'amont (voir chapitre 3).

L'examen des évolutions longitudinales a été effectué à plusieurs reprises dans différentes conditions: deux campagnes dans l'estuaire marin (salinité: de < 1 à 30) à bord du navire Belgica en juillet 2000 et en novembre 2000, une campagne dans l'estuaire d'eau douce à l'amont (de Schellebelle au km 140 à Sint Anna) en juillet 2001. Lors de la campagne de 2001 en amont, les prélèvements ont été effectués à chaque station depuis les berges et les pontons d'accès selon leur disponibilité. Aussi, lors de cette campagne, les échantillonnages ont été faits durant l'étalement de marée basse en chaque station. Il a fallu trois jours pour couvrir toutes les stations en respectant cette procédure.

2.1.2 Paramètres mesurés

Chaque prélèvement d'eau, toutes campagnes confondues, a fait l'objet d'une analyse identique comprenant les mesures suivantes:

Paramètres physiques : la température, la salinité, les matières en suspension, la pénétration lumineuse (disque de Secchi¹)

Paramètres chimiques : l'oxygène dissous, le pH et l'alcalinité totale, les nutriments (silice, nitrates, nitrites, ammonium, orthophosphates)

Paramètres biologiques : la production phytoplanctonique (technique du ¹⁴C), la production au noir (idem), la chlorophylle *a* et les phaeopigments, la respiration communautaire nette

La suite de ce chapitre expose les modes opératoires associés à chaque paramètre. Les résultats obtenus sont présentés au chapitre 3.

2.2 Paramètres physiques

2.2.1 Température et salinité

La température et la conductivité sont mesurées sur le terrain à l'aide d'une sonde de terrain WTW LF 191. La salinité pratique (PSS 78) est calculée à partir de la conductivité et de la température (Fofonoff et Millard 1983). La conductivité mesurée dans l'estuaire à la température T ($^{\circ}$ C) est rapportée à la conductivité mesurée dans le KCl de salinité 35 à la température de 15 $^{\circ}$ C (cette conductivité vaut 42.914 mS.cm⁻¹).

$$K = C / 42.914$$

avec C la conductivité mesurée sur le terrain. La valeur K est corrigée par rapport à la température et à la pression:

$$K_T = K \cdot k_p^{-1} \cdot k_t^{-1}$$

avec k_p le facteur de correction pour la pression qui vaut 1 pour des mesures en surface, et k_t le facteur de correction par rapport à la température:

$$k_t = 0.6766097 + (2.00564E-2 + (1.104259E-4 + (-6.9698E-7 + 1.0031E-9 * T) * T) * T) * T$$

¹ Uniquement pour les suivis temporels à Sint Anna.

Le résultat K_T est le rapport de conductivité que l'on aurait obtenu par une mesure au salinomètre à la température T . La salinité S est obtenue à partir de K_T :

$$S = 0.0080 - 0.1692 * K_T^{1/2} + 25.3851 * K_T + 14.0941 * K_T^{3/2} - 7.0261 * K_T^2 + 2.7081 * K_T^{5/2} + \Delta S$$

avec:

$$\Delta S = [(T - 15) / (1 + 0.0162 * (T - 15))] . (0.0005 - 0.0056 * K_T^{1/2} - 0.0066 * K_T - 0.0375 * K_T^{3/2} + 0.0636 * K_T^2 - 0.0144 * K_T^{5/2})$$

2.2.2 Matières en suspension et profondeur de Secchi

La concentration des matières en suspension (MES) est mesurée par gravimétrie au laboratoire. Les MES sont recueillies par filtration d'un volume connu sur filtre Sartorius en acétate de cellulose (porosité 0.45 µm). Le filtre est préalablement séché pendant 24 heures à 50°C puis taré à l'aide d'une balance de précision (Sartorius RC 210S). L'opération de séchage est reproduite après la filtration pour la pesée des MES. La transparence de l'eau est estimée à l'aide d'un disque de Secchi (Tyler 1968).

2.3 Paramètres chimiques

2.3.1 pH, alcalinité totale et carbone inorganique dissous

2.3.1.a pH

Le pH est mesuré sur le terrain avec un pHmètre (Radiometer Copenhagen meterLab PHM 202) soigneusement étalonné par l'emploi de solutions tampons de pH 7 et 9. La mesure est effectuée immédiatement après le prélèvement d'eau, car l'échantillon évolue rapidement: des augmentations de pH de l'ordre de 0.1 peuvent être observées par suite du dégazage de CO₂ vers l'atmosphère.

2.3.1.b Alcalinité totale

Un échantillon d'eau prélevée (~ 100 ml) est immédiatement filtré sur Whatman GF/F (porosité 0.8 µm), et conservé au noir pour la mesure de l'alcalinité totale. Au laboratoire, un volume de 25 ml est titré par une solution HCl 0.01 M. La détermination du point d'équivalence se fait à l'aide de la méthode de Gran au pHmètre de laboratoire Corning

pHmeter 130 (Monroe et Weber-Shirk 1998). Le principe de la méthode veut qu'on obtienne la suppression de l'alcalinité initiale par ajout d'acide. Lorsque le point d'équivalence est dépassé de manière certaine (par exemple, à pH = 4), le nombre de moles de H⁺ ajouté est égal au nombre de moles de H⁺ en solution. On peut donc retrouver le volume d'acide nécessaire pour obtenir l'équivalence (V_{eq}), grâce à l'équation suivante:

$$N_{\text{HCl}}(V_{\text{HCl}} - V_{\text{eq}}) = (V_0 + V_{\text{HCl}})[\text{H}^+] \quad \text{après l'équivalence}$$

où: N_{HCl} est la normalité de l'acide ajouté

V_{HCl} est le volume d'acide ajouté

V₀ est le volume initial de l'échantillon, avant le titrage

[H⁺] est la concentration à l'équilibre de H⁺, c'est-à-dire 10^{-pH}

L'alcalinité totale (TAlk) est facilement obtenue à partir de l'équation suivante:

$$V_0 \cdot \text{TAlk} = V_{\text{eq}} \cdot N_{\text{HCl}}$$

L'alcalinité totale est toujours exprimée en milliéquivalents par litre.

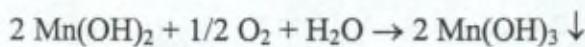
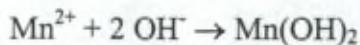
2.1.3.c Carbone inorganique dissous

Le carbone inorganique dissous (DIC) ainsi que la spéciation des carbonates sont estimés à l'aide d'un algorithme de calcul en tenant compte de l'alcalinité totale, du pH et de la température du milieu naturel (Stumm et Morgan 1996). Comme les mesures de ce travail sont effectuées dans la partie amont de l'estuaire (eaux douces et oligohalines), nous faisons deux hypothèses: primo, l'éventuel effet de la salinité est négligé dans le calcul, et secundo, l'alcalinité totale peut être assimilée à l'alcalinité des carbonates (la contribution des borates est négligeable devant celle des carbonates). Il faut préciser que les mesures d'alcalinité dans l'estuaire marin présentées dans ce travail ont été effectuées par les membres de l'Unité d'Océanographie Chimique (Prof. Frankignoulle, ULg).

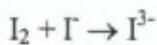
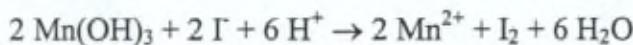
2.3.2 Oxygène dissous

La méthode de Winkler est utilisée pour la détermination de la concentration en oxygène dissous (Grasshoff et al. 1983). Il s'agit d'un titrage iodométrique qui se déroule en deux étapes: une étape de fixation de l'oxygène dissous dans un précipité au moment du prélèvement, et l'étape de dosage. Le prélèvement d'eau du milieu naturel est transféré dans un flacon "Winkler". Il s'agit d'un flacon en verre de volume connu, et dont la fermeture est assurée par un bouchon biseauté pour éviter la formation de bulles d'air. Les

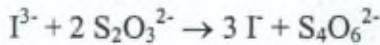
solutions de blocage (1 ml de MnSO_4 2.4M, puis 1 ml de KOH/KI/ NaN_3 5M/3.6M/0.15M) sont ajoutées à l'échantillon immédiatement après remplissage du flacon. En milieu alcalin, l'ion manganeux (Mn^{2+}) réagit avec l'oxygène dissous pour former des précipités manganiques (Mn^{3+}).



Le précipité est stable, et il peut être dosé ultérieurement. Au moment du dosage, l'échantillon est acidifié jusqu'à $\text{pH} = 1-2$ à l'aide de 1 ml de H_2SO_4 concentré. Après dissolution du précipité, les ions manganiques en solution sont réduits par l'iodure.



L'iode (I^{3-}) résultant de la réaction donne une couleur jaunâtre à la solution. Il est dosé par le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.01M) jusqu'à la décoloration totale de la solution.



Le point d'équivalence est mis en évidence par l'ajout de poudre d'amidon. Le nuage électronique de I^{3-} interagit avec les hydroxo dipôles de l'hélice d'amidon pour former un complexe bleu. La disparition de la couleur bleue indique le point d'équivalence.

Interférences

Des erreurs aléatoires peuvent survenir lors du blocage en fonction de la teneur en oxygène dissous et de son écart à la saturation. D'autre part, le titrage doit être rapide et continu après l'acidification, car I^{3-} est photosensible et présente une pression de vapeur significative qui le pousse à se dégager sous forme de I_2 gazeux.

2.3.3 Nitrates et nitrites

Principe

L'eau du milieu naturel est filtrée sur filtres Sartorius en acétate de cellulose de porosité 0.45 μm . Le filtrat est dosé en nitrates et en nitrites par la méthode colorimétrique de diazotation (Grasshoff et al. 1983; Greenberg et al. 1985). La méthode commence par la réaction des nitrites avec le sulfanilamide, et mène à la formation de l'ion diazonium.

Celui-ci réagit avec le N-(1-naphthyl)-éthylène-diamine dihydrochloride (NED) pour donner un colorant azoté rose détectable par colorimétrie à 520 nm. La mesure est recommandée, mais cette fois les nitrates sont réduits en nitrites par réaction avec le cadmium (réduction hétérogène). Le dosage des "nitrites totaux" (i.e. les nitrates réduits et les nitrites présents au départ) est effectué par la même voie opératoire. La concentration en nitrates est calculée par différence entre les « nitrites totaux » et les nitrites présents au départ.

Appareillage

Toutes ces opérations sont automatisées par l'usage d'un échantillonneur (Autoanalyser Technicon) et d'un colorimètre (Technicon Autoanalyser II S.C. Colorimeter), reliés entre eux par un système de tuyaux en plastique ($\phi = 2$ mm). Grâce à une pompe péristaltique, la solution analysée et les réactifs sont véhiculés au sein des tuyaux, où s'effectue le mélange et les réactions. En particulier, une colonne contenant des grains de cadmium (réducteur) recouverts de cuivre (catalyseur) sert à la catalyse hétérogène réduisant les nitrates en nitrites. Un enregistreur (Technicon) est raccordé au colorimètre et transmet les signaux d'absorbance sous la forme d'un diagramme de pics, dont la hauteur est proportionnelle à la concentration en nitrites.

Mode opératoire

Après stabilisation du colorimètre, la longueur d'onde de la lampe est réglée à 520 nm. Durant 30 minutes, le système de tuyau est rincé avec la solution de rinçage (Eau milli-Q + Brij). Ensuite la solution de rinçage est remplacée par les réactifs ("solution de travail" + tampon). Après que le colorimètre ait été réglé par rapport à l'étonal maximum, les étalons et les échantillons sont disposés dans l'échantillonneur pour être prélevés automatiquement. La courbe d'étalonnage est établie en reportant la hauteur des pics-étalons en fonction de leurs concentrations. Les pics associés aux échantillons sont ensuite rapportés à cette droite.

Préparation des réactifs

Grains de cadmium : les grains sont trempés dans HCl 32 % pendant 24 heures. Ils sont ensuite rincés à l'eau milli-Q (mQ) puis avec une solution de CuSO₄ (4.0 10⁻² M), avant d'être introduits dans une colonne en verre de 3 mm de diamètre. La colonne est bouchée par de la ouate à ses extrémités. Pendant toute la préparation, le contact avec l'air doit être évité afin d'exclure l'oxydation du cadmium.

Tampon NH₄Cl : dissoudre 40 g de chlorure d'ammonium dans 5 ml d'hydroxyde d'ammonium concentré et amener à 1 litre avec de l'eau mQ.

Solution sulfanilamide : dissoudre 5 g de C₆H₈N₂O₂S dans 50 ml de HCl 32 % et amener à 500 ml avec de l'eau mQ.

Solution NED : dissoudre 0.5 g de C₁₂H₁₆Cl₂N₂ dans 500 ml d'eau mQ.

La "solution de travail" est un mélange 50 :50 des solutions de sulfanilamide et de NED.

Préparation des étalons

Les étalons nitrites sont préparés à partir d'une solution-mère de concentration 1000 ppm en NO₂⁻. La concentration des nitrites dans l'Escaut varie entre 0.1 ppm et 2 ppm (~ 2 et 40 µM). Par une série de dilutions de la solution-mère dans 100 ml d'eau mQ, cinq étalons sont préparés de manière à couvrir la gamme de concentrations en nitrites. Les étalons nitrates sont préparés de la même manière à l'aide d'une solution-mère de 1000 ppm en NO₃⁻. Toutefois le domaine de concentrations des étalons nitrates s'étend de 1 à 5 ppm-NO₃⁻ (~ 16 à 80 µM). La concentration des nitrates variant de 20 µM à 400 µM dans l'Escaut, il est souvent nécessaire de diluer les échantillons entre 5 et 8 fois.

La mesure complète d'une série d'échantillons pouvant durer plusieurs heures, il s'agit de vérifier qu'aucune déviation de l'appareil ne vient perturber la mesure. La figure 2 montre un exemple d'étalonnage de nitrates répété sur deux heures. On peut voir que les droites d'étalonnage ne dévient pas significativement les unes par rapport aux autres au cours du temps.

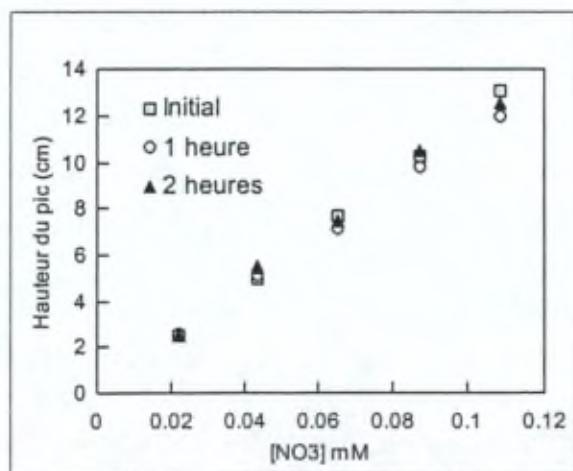


Figure 2.2 : Droite d'étalonnage des nitrates au temps initial (pente = 119.03 cm.mM⁻¹; R² = 0.999), après 1 heure (pente = 111.75 cm.mM⁻¹; R² = 0.998) et après 2 heures (pente = 117.52 cm.mM⁻¹; R² = 0.995).

Interférences

Les interférences éventuelles dans la mesure proviennent d'une turbidité élevée. Elles sont négligeables lorsque l'on filtre préalablement l'échantillon sur acétate de cellulose ($0.45\mu\text{m}$).

Exactitude et erreur

L'exactitude de la mesure est de $\pm 0.02 \mu\text{M}$ pour les nitrites et de $\pm 0.5 \mu\text{M}$ pour les nitrates. L'erreur relative est de $\sim 0.2 \%$.

2.3.4 Ammonium

L'eau du milieu naturel est filtrée sur filtres Sartorius en acétate de cellulose de porosité $0.45 \mu\text{m}$. Deux méthodes différentes ont été utilisées pour mesurer l'ammonium dissous dans le filtrat. La méthode de Nessler, mieux adaptée aux concentrations élevées en NH_4^+ (Greenberg et al. 1985), a été appliquée aux eaux de l'amont, où les concentrations sont de l'ordre de $400 \mu\text{M}$. En revanche, pour les eaux de l'aval (c-à-d, à partir de la salinité 5), la méthode de Koroleff (1976) a servi à déterminer des concentrations en NH_4^+ de l'ordre de $2 \mu\text{M}$. Dans le principe, les deux méthodes sont semblables. Il s'agit de méthodes manuelles colorimétriques basées sur la réponse en absorption de complexes colorés dérivés de NH_4^+ .

2.3.4.a Méthode de Nessler

Principe

L'ammoniac réagit en milieu basique avec le réactif de Nessler (K_2HgI_4) selon la réaction suivante pour donner un complexe coloré jaune détectable par absorption à 400 nm .



Mode opératoire

Dans des tubes à centrifuger de 50 ml entourés de papier aluminium, on dispose dans l'ordre :

- 5 ml de solution à tester (étalon, échantillon)
- 5 ml de tampon borate à $\text{pH } 11$
- 0.5 ml de $\text{NaOH } 12 \text{ M}$

Le tout est porté à 20 ml avec de l'eau mQ. Un volume de 250 µl de sel de Rochelle est ajouté, avant de porter le tout à 45 ml avec de l'eau mQ. Après agitation, le réactif de Nessler est ajouté à raison de 1.2 ml. La solution est portée à 50 ml (H₂O mQ), avant d'être agitée. Après une dizaine de minutes, la mesure de colorimétrie peut être effectuée au spectromètre (Spectronic Unicam Genesys 10 UV).

Préparation des réactifs

Sel de Rochelle (Tartrate tétrahydraté de sodium-potassium) : ce sel prévient la précipitation de calcium et de magnésium due à l'alcalinité élevée nécessaire à la réaction de Nessler. Il est préparé de la façon suivante : 5 g de KNaC₄H₄O₆.4H₂O dans 100 ml d'eau mQ.

Hydroxyde de sodium : solution de NaOH 12 M.

Réactif de Nessler : solution préparée du commerce (toxique).

Préparation des étalons

Une solution-mère de 1000 ppm en NH₄⁺ est préparée à partir de 0.2966 g de NH₄Cl dans 100 ml d'eau permutée (sur colonne Millipore Milli-Q, ou mQ). Une gamme de 5 étalons est préparée par dilution de la solution-mère dans l'eau mQ. Le domaine des concentrations s'étend d'environ 1 à 10 ppm en NH₄⁺ (~ 50 à 500 µM). Au besoin les échantillons sont dilués pour correspondre au domaine de concentrations des étalons.

Un test a été effectué afin de vérifier la validité de la méthode pour des concentrations allant jusqu'à 20 ppm en NH₄⁺. Le test couvre des temps de réaction de 10 minutes et de 1h30 (figure 2.3). Le résultat montre, d'une part, que la méthode est valide pour les hautes concentrations en ammonium, et cela malgré une absorbance supérieure à 1. D'autre part, il n'y a pas de différence significative entre les deux temps de réaction à condition d'effectuer la réaction au noir. Dans ce travail, les étalons et les échantillons ont été mesurés dans une gamme de 1 à 10 ppm-NH₄⁺ après environ 10-15 minutes.

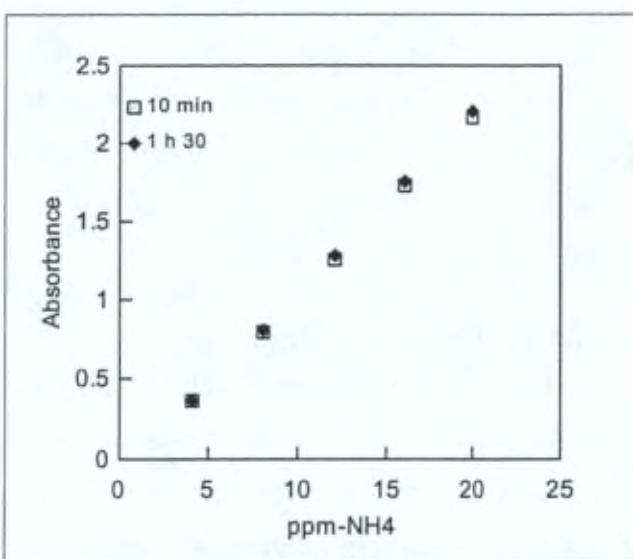


Figure 2.3 : Droites d'étalonnage de NH_4^+ à deux temps de réaction différents : 10 minutes ($R^2 = 0.997$; x-coef = 0.107) et 1 h 30 ($R^2 = 0.997$; x-coef = 0.109).

Erreur relative

L'erreur relative est d'environ 1.2 %.

2.3.4.b Méthode de Koroleff

Principe

La méthode du phénolate ou "indophenol blue method" est basée sur la réaction de NH_3 avec le phénolate en milieu alcalin et en présence d'un agent oxydant (HClO). L'utilisation de disodium nitroprusside dihydraté ($\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}.2\text{H}_2\text{O}$) accélère la réaction à température ambiante. La solution devient bleue, et l'ammonium peut être dosé à 630 nm.

Mode opératoire

Dans une bouteille en verre Schott de 100 ml préalablement décontaminée, on dispose 50 ml d'échantillon, 2 ml de "réactif phénol", 1 ml de la solution alcaline de trisodium citrate, et 2 ml de "réactif hypochlorite". L'échantillon est soigneusement agité après chaque ajout, puis est placé au noir pendant 1 heure. L'absorbance est mesurée au colorimètre (Spectronic Unicam Genesys 10 UV) dans une cellule de 10 cm.

Préparation des réactifs

Réactif Phénol: deux solutions A et B sont préparées. Pour la solution A, dissoudre 80 g de phénol (C_6H_5OH ; toxique) dans 300 ml d'éthanol, et ajouter ensuite 600 ml d'eau mQ. Pour la solution B, dissoudre 600 mg de disodium nitroprusside dihydraté dans 500 ml d'eau mQ (toxique). Les deux solutions A et B sont mélangées dans une bouteille en verre brun. Le réactif est stable pendant environ un mois.

Solution de trisodium citrate: dissoudre 240 g de trisodium citrate dihydraté ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) dans 500 ml d'eau mQ. Ajouter 10 ml de NaOH 1M afin de rendre la solution alcaline. Faire bouillir jusqu'à obtention d'un volume inférieur à 500 ml pour provoquer l'évaporation des traces d'ammoniac éventuellement présentes. Laisser refroidir et ramener à 500 ml avec de l'eau mQ. La solution est stable dans une bouteille en polyéthylène. Le citrate a pour rôle de prévenir par complexation la précipitation des hydroxydes de calcium et de magnésium.

Réactif hypochlorite: dissoudre 10 ml d'eau de Javel commerciale dans 100 ml de solution de trisodium citrate. Cette solution se conserve au frigo et au noir pendant environ trois semaines. L'idéal reste de la préparer le jour de la mesure.

Interférences (valables pour les deux techniques)

L'ammoniac est volatile et présent dans l'air. De nombreuses sources peuvent contaminer l'échantillon.

2.3.5 Silice dissoute

Principe

L'eau du milieu naturel est filtrée sur filtres Sartorius en acétate de cellulose de porosité 0.45 µm. Le filtrat est dosé en silice dissoute par la méthode colorimétrique dite du "molybdate-silicate" (Grasshoff et al. 1983; Greenberg et al. 1985). Les silicates solubles réagissent en milieu acide avec le molybdate pour donner un composé silicomolybdique, qui peut être réduit en bleu de molybdène par l'acide ascorbique. Le composé est dosé par absorbance à 650 nm.

Mode opératoire

Prélever 5 ml de l'échantillon (ou étalon) à mesurer et transférer dans un tube en plastique de 50 ml. Ajouter 0.5 ml de molybdate, puis agiter et laisser agir 20 minutes. Ajouter ensuite successivement 1 ml d'acide oxalique et 1 ml d'acide ascorbique. Agiter et laisser apparaître la couleur pendant 20 minutes. Le composé est dosé au colorimètre (Spectronic Unicam Genesys 10 UV) dans une cellule en plastique de qualité optique.

Préparation des réactifs

Molybdate d'ammonium: dissoudre 10 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dans 800 ml d'eau mQ. Ajouter 3 ml de H_2SO_4 concentré et amené à 1000 ml. La solution peut se conserver au frigo.

Acide ascorbique: dissoudre 10 g de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ dans 400 ml d'eau mQ. Ajouter 50 ml d'acétone et porter à 1000 ml.

Acide oxalique: dissoudre 15 g $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 1 litre d'eau mQ. L'acide oxalique détruit l'acide molybdophosphorique qui se forme à partir d'orthophosphate, et qui constitue une source d'interférence.

Préparation des étalons

Cinq étalons, de concentrations 1 à 5 ppm en Si et de volume égal à 50 ml, sont préparés par dilution à partir d'une solution-mère de 1000 ppm en Si. Les concentrations des étalons couvrent le domaine de concentrations rencontrées dans l'estuaire de l'Escaut.

2.3.6 Orthophosphates dissous

Principe

L'eau du milieu naturel est filtrée sur filtres Sartorius en acétate de cellulose de porosité 0.45 µm. Le filtrat est dosé en orthophosphates dissous par la méthode colorimétrique de l'acide ascorbique (Grasshoff et al. 1983; Greenberg et al. 1985). Le molybdate d'ammonium et le potassium-antimoine oxytartrate réagissent avec les orthophosphates pour former un complexe phosphomolybdique (ou molybdophosphorique). Ce complexe est ensuite réduit par l'acide ascorbique en un composé coloré bleu, qui peut être mesuré par colorimétrie à 880 nm.

Mode opératoire

A 50 ml d'échantillon (ou d'étalon), ajouter 1 ml d'acide ascorbique, puis 1 ml de "réactif mixte". Bien mélanger après chaque addition. L'absorbance est lue dans un délai de 10 à 30 minutes au colorimètre (Spectronic Unicam Genesys 10 UV) et à l'aide d'une cellule de 10 cm.

Préparation des réactifs

Acide sulfurique: préparer une solution de H₂SO₄ 9N.

Solution acide ascorbique: dissoudre 10 g d'acide ascorbique (C₆H₈O₆) dans 50 ml d'eau mQ. Ajouter 50 ml de H₂SO₄ 9N. Cette solution se conserve une semaine maximum au frigo.

Réactif mixte (molybdate): dissoudre 12.5 g d'ammonium heptamolybdate tetrahydrate (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O dans 125 ml d'eau mQ. Ajouter 350 ml d'H₂SO₄ 9N à la solution de molybdate, en mélangeant sans arrêt. Dissoudre par ailleurs 0.5 g de tartrate antimoine potassium K(SbO)C₄H₄O₆ dans 20 ml d'eau mQ. Ajouter la solution de tartrate à la solution de molybdate, et mélanger convenablement. Ce réactif est stable plusieurs mois au frigo.

Préparation des étalons

Cinq étalons, de concentrations 0.4 à 2 ppm-PO₄³⁻, sont préparés par dilution à partir d'une solution-mère de 1000 ppm-PO₄³⁻. Cette gamme couvre la variabilité des concentrations en orthophosphates rencontrées dans l'estuaire de l'Escaut.

Interférences

L'interférence due aux silicates est éliminée si le pH est inférieur à 1 lors de la réaction. Des interférences peuvent apparaître en présence d'arséniates et de sulfure d'hydrogène (H₂S). Les échantillons peuvent être conservés au surgélateur (-20°C) jusqu'à approximativement quatre mois après le prélèvement. Après ce délai, la concentration en orthophosphates diminue sensiblement au cours du temps pour des raisons inconnues, mais qui ne sont pas liées à des phénomènes d'adsorption de surface (Clementson et Wayte 1992).

Erreur relative

L'erreur relative est d'environ 15 % sur des concentrations de l'ordre de 0.2 µM, et d'environ 2 % sur des concentrations de l'ordre de 3 µM.

2.4 Paramètres biologiques

2.4.1 Production phytoplanctonique

2.4.1.a Production particulière

Principe

La production phytoplanctonique est mesurée par la méthode d'incorporation du $^{14}\text{CO}_2$ en incubateur (Steemann Nielsen 1952; IOC-SCOR 1994). Le principe de la méthode repose sur le postulat que les deux isotopes du carbone (^{12}C et ^{14}C) sont incorporés selon des voies identiques, mais dans des proportions différentes qui dépendent de la concentration des isotopes dans la solution. Ce postulat est résumé par l'équation suivante:

$$^{12}\text{CO}_2 \text{ incorporé} / ^{12}\text{CO}_2 \text{ solution} = ^{14}\text{CO}_2 \text{ incorporé} / ^{14}\text{CO}_2 \text{ solution} \quad (2.1)$$

Donc, l'incorporation de $^{12}\text{CO}_2$ peut être calculée si l'on connaît celle de $^{14}\text{CO}_2$ ainsi que le rapport isotopique en solution:

$$^{12}\text{CO}_2 \text{ incorporé} = (^{12}\text{CO}_2 / ^{14}\text{CO}_2) \text{solution} * ^{14}\text{CO}_2 \text{ incorporé} \quad (2.2)$$

Présentée par cette équation, la méthode est simple et élégante, mais son postulat implique des approximations qui sont analysées au chapitre 5.

Chaque expérience menée sur l'eau de l'Escaut se subdivise en trois mesures différentes, qui s'effectuent simultanément: une mesure de la réponse photosynthétique au changement de lumière (courbe photosynthèse-irradiance ou courbe PE), une mesure cinétique de l'incorporation de ^{14}C à lumière constante (irradiance maximum de l'incubateur), et une mesure cinétique de l'incorporation de ^{14}C à l'obscurité. La durée de l'incubation est d'environ 4 heures.

Mode opératoire

L'eau prélevée est immédiatement tamisée sur un filet (63 mesh) pour éliminer le zooplancton. Elle est ensuite conservée à la température du milieu et au noir jusqu'au

moment de l'incubation. Un petit volume de solution en $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ (23.8 $\mu\text{Ci.ml}^{-1}$, correspondant à 0.38 mmol $^{14}\text{C.l}^{-1}$) est prélevé et ajouté dans l'échantillon à analyser, à raison de 1.5 ml par litre d'eau de l'Escaut. L'eau est soigneusement mélangée, puis directement redistribuée dans des flacons Corning pour l'incubation, à savoir: 8 flacons de 250 ml pour la courbe PE, 4 flacons de 50 ml pour la mesure cinétique à lumière constante, et trois flacons de 50 ml pour la mesure cinétique au noir. Cinq prélèvements de 1 ml sont également transférés dans des flacons à scintillation contenant 0.5 ml de NaOH 0.1 M. Il s'agit des cinq solutions-témoins identiques reprenant la concentration de départ en ^{14}C dans l'eau d'incubation (i.e. $^{14}\text{CO}_2$ solution dans l'équation 2.1).

L'expérience d'incorporation de ^{14}C est effectuée dans un incubateur thermostatisé. Les flacons y sont disposés sur un plateau agité horizontalement afin d'éviter la sédimentation des particules en suspension. Les 8 flacons de 250 ml sont alignés en rangs, l'un derrière l'autre, de telle sorte que le premier flacon seulement soit directement exposé à la source lumineuse (Sylvania Daylight F 8W/D), les autres flacons ne recevant, pour l'essentiel, que la lumière transmise par les précédents (ainsi qu'une faible intensité de lumière rétro-diffusée). L'irradiance mesurée dans chaque flacon à l'aide d'un quantamètre sphérique (Biospherical Instruments QSL 2100) fait état d'une évolution exponentiellement décroissante le long de la rangée. Par ailleurs, quatre flacons de 50 ml sont disposés de manière à recevoir chacun la même intensité lumineuse, à savoir l'intensité maximum. Trois flacons de 50 ml sont rangés dans une boîte noire également placée sur le plateau d'agitation.

Après chaque heure d'incubation, un flacon de 50 ml exposé à la lumière est filtré sur GF/F, suivant la procédure JGOFS (IOC-SCOR 1994). Le filtre est acidifié avec 100 μl de HCl 0.01 M avant d'être transféré dans un flacon à scintillation. Les trois flacons de 50 ml placés à l'obscurité sont également filtrés à intervalles réguliers sur une durée de quatre heure. Au terme des quatre heures, les 8 flacons de 250 ml sont filtrés simultanément suivant la même procédure. La quantité de ^{14}C incorporé dans chaque flacon est analysée dans un compteur à scintillation (Liquid scintillation analyzer Tri-Carb 1600 TR Packard) après addition de 10 ml de Ready Safe®.

La quantité de carbone incorporé est calculée à partir de l'équation 2.2 et des résultats d'incubation, en tenant compte cependant d'un facteur de discrimination isotopique pour le ^{14}C (= 1.05; IOC-SCOR 1994). La production (vitesse d'incorporation) à l'obscurité est alors estimée par régression linéaire à partir des résultats de la cinétique au noir. Cette contribution au noir (essentiellement due à l'activité nitrifiante) est soustraite de la

pour reproduire l'allure des points expérimentaux obtenus en incubateur. Logiquement, le modèle simplifié ne peut pas être extrapolé aux intensités d'irradiance élevées, sauf si l'on choisit d'ignorer les effets de la photoinhibition (voir plus bas).

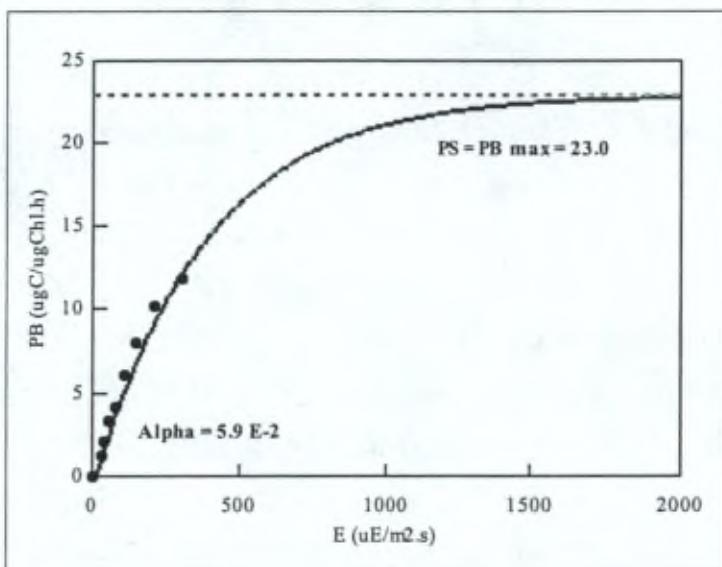


Figure 2.5 : Points expérimentaux d'une courbe PE obtenue dans notre incubateur à partir d'un échantillon d'eau de l'estuaire de l'Escaut (Anvers, 31 mai 2002). La courbe théorique provient de la formulation exponentielle simplifiée (éq. 2.4).

2.4.1.c Comparaison des conditions *in situ* et en incubateur

Pour tester la validité de nos mesures en incubateur, en particulier par rapport à la source de lumière artificielle, nous avons comparé les courbes PE obtenues respectivement *in situ* et en incubateur pour une même population naturelle de phytoplancton. L'expérience *in situ* a été conduite à partir du ponton de Sint-Anna le 31/05/2002. Après l'ajout de $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ dans les proportions habituelles, les flacons ont été maintenus *in situ* à différentes profondeurs fixes pendant une durée totale d'une heure. L'intensité lumineuse fut mesurée à l'aide d'un actinomètre chimique dans des flacons identiques attachés à la même ligne de mouillage (Nsiala 2002). La contribution au noir a été soustraite des résultats. Soulignons que cette journée était parfaitement ensoleillée et sans nuage. Un échantillon d'eau a été conservé à l'abri de la lumière pour une incubation au laboratoire le jour même. La chlorophylle *a* fut mesurée juste avant chaque incubation (*in situ* et en incubateur).

Les résultats de l'incorporation en incubateur ont été montrés à la figure 2.5 ci-dessus. Ceux de l'incorporation *in situ* sont montrés à la figure 2.6. Contrairement à ce que l'on observe dans l'incubateur, la formulation exponentielle simplifiée est incapable de reproduire la réponse photosynthétique obtenue dans le milieu naturel (figure 2.6 a). En raison d'une forte inhibition de la photosynthèse aux irradiances élevées, l'équation complète de Platt (éq. 2.3) doit être utilisée (figure 2.6 b).

Les résultats montrent que la photoinhibition peut prendre place au cours d'une incubation *in situ*, même dans un milieu turbide comme l'estuaire de l'Escaut. La différence observée entre les mesures *in situ* et en incubateur provient de l'écart entre l'intensité lumineuse maximum de l'incubateur et celle du milieu naturel (~ 500 et $\sim 1500 \text{ } \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivement). Mais il est important de constater que la partie de la courbe PE comprise entre 0 et $500 \text{ } \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ est identique dans les deux cas. D'ailleurs, les paramètres α^B sont étonnamment proches dans les deux expériences ($5.5 \cdot 10^{-2}$ et $5.9 \cdot 10^{-2} \text{ } \mu\text{gC} \cdot \mu\text{gChl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$), malgré la dissemblance entre les deux méthodologies d'incubation. Cela signifie que l'incubateur reproduit suffisamment bien les conditions naturelles dans le domaine des faibles irradiances, à tout le moins, pour permettre la détermination de l'efficience photosynthétique (α^B).

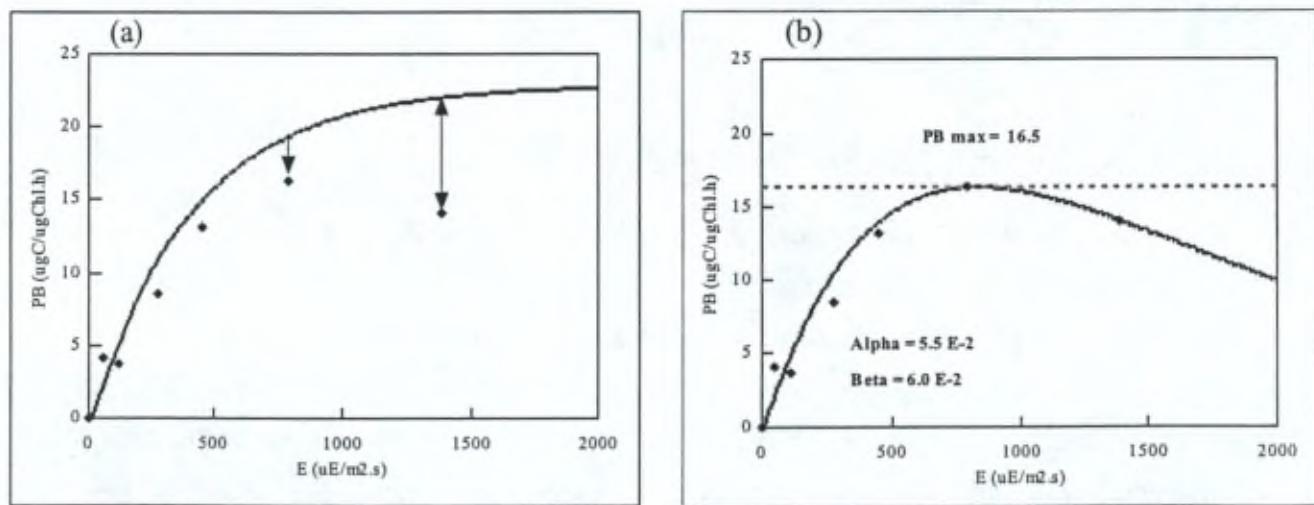


Figure 2.6 : Points expérimentaux d'une courbe PE obtenue *in situ* dans l'estuaire de l'Escaut (Anvers, 31 mai 2002). (a) La courbe dessinée est la même que dans la figure 2.5, et (b) la courbe théorique provient de la formulation complète de Platt (éq. 2.3).

production de chaque flacon exposé à la lumière (Banse 1993). La différence est la production du phytoplancton à la lumière. La productivité est calculée en rapportant la production à la biomasse. Les productivités à lumière variable (flacons de 250 ml) sont mises en graphe en fonction de l'intensité lumineuse pour obtenir la courbe PE.

2.4.1.b Courbe photosynthèse-irradiance

Les courbes PE permettent d'établir la relation entre la vitesse spécifique de fixation du carbone et la lumière disponible. Parmi les différentes expressions proposées dans la littérature pour exprimer la productivité P^B (B pour biomasse) en fonction de l'intensité lumineuse (Jassby et Platt 1976), nous avons opté pour la relation exponentielle proposée par Platt et al. (1980):

$$P^B = P_{s}^B \cdot (1 - \exp(-\alpha^B \cdot E / P_{s}^B)) \cdot \exp(-\beta \cdot E / P_{s}^B)$$

$\underbrace{\phantom{P_{s}^B \cdot (1 - \exp(-\alpha^B \cdot E / P_{s}^B)) \cdot}$ F₁

$\underbrace{\exp(-\beta \cdot E / P_{s}^B)}$ F₂

où: α^B est l'efficience photosynthétique $[\mu\text{g C} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot (\mu\text{E} \cdot \mu\text{g Chl} \cdot \text{h})^{-1}]$

β est l'indice de photoinhibition $[\mu\text{g C} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot (\mu\text{E} \cdot \mu\text{g Chl} \cdot \text{h})^{-1}]$

P_{s}^B est la vitesse constante de photosynthèse spécifique $[\mu\text{g C} \cdot (\mu\text{g Chl} \cdot \text{h})^{-1}]$

E est l'irradiance photosynthétiquement disponible (PAR) $[\mu\text{E} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}]$

La formulation de Platt est le produit de P_{s}^B par deux fonctions F_1 et F_2 , comme le montre la figure 2.4. L'une des caractéristiques les plus intéressantes qui ressort de ce graphe est que l'effet de la photoinhibition est déjà perceptible aux faibles intensités lumineuses. Il faut noter que la vitesse maximum de photosynthèse spécifique P_{\max}^B peut toujours être obtenue grâce à l'équation :

$$P_{\max}^B = P_{s}^B \cdot (\alpha^B / (\alpha^B + \beta)) \cdot (\beta / (\alpha^B + \beta))^{\beta / \alpha^B}$$

La relation exponentielle de Platt (éq 2.3) permet donc de tenir compte de la photoinhibition en caractérisant le phytoplancton avec trois paramètres photosynthétiques.

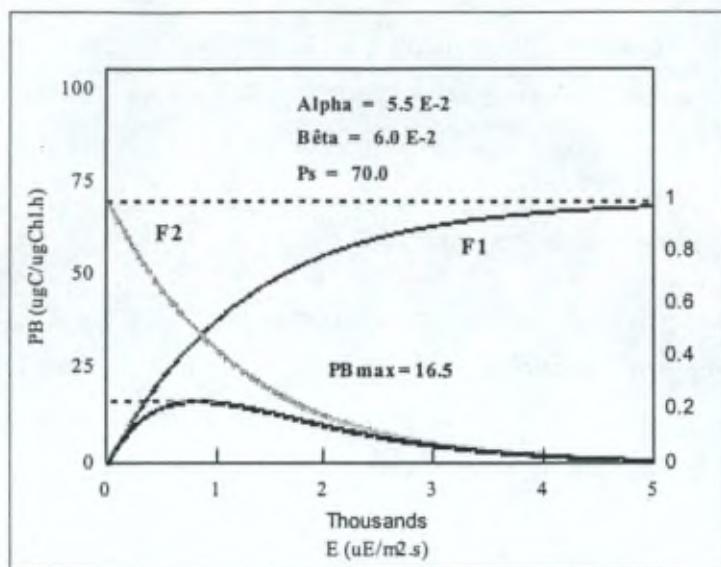


Figure 2.4 : La courbe de Platt est le produit de P_s^B et de deux fonctions : un facteur de production F_1 (gris foncé), et un facteur de photoinhibition F_2 (gris clair). Le résultat est la courbe PE (en noir). Ici, P_s^B est noté P_s .

Toutefois, notre incubateur ne permet pas d'atteindre une intensité lumineuse aussi élevée que l'irradiance solaire naturelle, particulièrement celle d'été. Par conséquent, les interprétations des courbes PE faites en incubateur reposent souvent sur un ensemble de points limités à la portion ascendante de la courbe (figure 2.5). Il est généralement possible de superposer à ces points expérimentaux la courbe exponentielle simplifiée, sans facteur de photoinhibition :

$$P^B = P_{\max}^B \cdot (1 - \exp(-\alpha^B \cdot E / P_{\max}^B)) \quad (2.4)$$

Si l'on suppose que $\beta = 0$, P_s^B peut être remplacée par P_{\max}^B dont la valeur est lue directement sur le graphe comme la valeur-plateau. Lorsque l'incubation est faite dans des conditions où la photoinhibition est difficilement observable, par exemple sous les faibles luminosités de l'incubateur, il devient malaisé d'appliquer l'équation complète de Platt. Car, en l'absence de points expérimentaux aux irradiances élevées, l'incertitude associée aux valeurs de P_s^B et de β devient trop grande. Il est alors hasardeux de faire un choix parmi les différents triplets possibles de paramètres photosynthétiques (α^B , β , P_s). En effet, la faible couverture de la courbe procurée par les points expérimentaux ne permet pas de contraindre la valeur des paramètres vers une solution unique. Par conséquent, l'application du modèle exponentiel simplifié (éq. 2.4) s'avère souvent plus judicieuse

Par ailleurs, il faut également signaler que lors de la mesure *in situ* les flacons ont été maintenus à des profondeurs fixes sous la surface. Or cette situation est totalement artificielle étant donné le mélange vertical des masses d'eau dans l'estuaire de l'Escaut. Elle favorise le développement de la photoinhibition qui dépend du temps d'exposition à la lumière (Melis 1999). Mallin et Paerl (1992) ont également observé que la fixation de flacons lors d'une incubation pouvait constituer une source d'erreur significative à cause de la photoinhibition (voir aussi Lizon et Lagadeuc 1998). Ils considèrent même que, dans un système naturel bien mélangé, le phytoplancton est soumis à une variation continue de l'irradiance qui réduit l'effet de la photoinhibition. D'après Pahl-Wostl et Imboden (1990), la durée d'exposition nécessaire au développement de la photoinhibition varie entre 0.5 et 1.5 heures, ce qui est plus long que la période d'excursion verticale du phytoplancton estimée dans l'estuaire (~ 20 minutes). Sur la base de ces considérations, nous faisons le choix d'ignorer la photoinhibition dans ce travail, et de faire appel à l'équation exponentielle simplifiée (éq. 2.4) pour reproduire nos courbes PE expérimentales.

2.4.1.c Production dissoute

Le principe est de récupérer le filtrat du dernier échantillon d'une cinétique de production phytoplanctonique telle que décrite ci-dessus. Cet échantillon ne contient plus que du matériel dissous dont les seules espèces marquées sont le $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ introduit au début de l'expérience, et les produits excrétés par le phytoplancton durant l'incubation et contenant du ^{14}C . Le carbone inorganique dissous est évacué par bullage après acidification du milieu (jusqu'à un pH entre 3 et 4) avec du H_3PO_4 suprapur (0.87 M). On prélève 1 ml de la solution décarbonatée à laquelle on rajoute 0.5 ml de NaOH 0.01 M. La radioactivité de l'échantillon obtenu est alors mesurée par la méthode classique du comptage par scintillation.

Par mesure de précaution, nous avons vérifié que l'élimination du $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ était complète par différents moyens: une cinétique de bullage en milieu acide, la même cinétique avec adjonction de l'enzyme « anhydrase carbonique » qui catalyse la déshydratation de l'acide carbonique et sa transformation en dioxyde de carbone, et enfin la précipitation des carbonates sous forme de BaCO_3 en milieu basique. La méthode d'élimination des carbonates par précipitation n'est pas très efficace car, en milieu basique, il se forme des complexes qui retiennent une partie des carbonates dans la solution.

Au moyen de cinétiques de bullage, nous observons un taux d'élimination de 99.93 % par rapport à la concentration de DIC au départ, après 5 à 7 minutes selon l'ajout ou non d'anhydrase carbonique. Après ce délai, la concentration de DIC restant se maintient au moins pendant une demi-heure. Le taux d'élimination du $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ est cependant insuffisant pour pouvoir observer une production dissoute au cours d'un mois peu productif tel que celui de novembre. En effet, les quantités de $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ que nous injectons sont élevées et restent importantes après le bullage en comparaison de la fraction potentiellement excrétée par le phytoplancton. Steemann Nielsen (1975) rapporte également qu'il peut subsister 0.02 % de ^{14}C dans un échantillon d'eau de mer après 30 minutes de bullage. Ce bruit de fond peut compter pour une excréition apparente non négligeable dans les zones peu productives. Cependant, dans l'estuaire de l'Escaut, le même taux d'élimination est théoriquement suffisant pour observer une excréition éventuelle durant les mois productifs tels que juillet. La production phytoplanctonique est en effet beaucoup plus importante en raison des concentrations élevées en chlorophylle *a*. Toutefois, malgré cela nous n'observons pas de production dissoute en juillet pour des incorporations d'une durée de quatre heures.

2.4.2 Chlorophylle *a* et phaeopigments

2.4.2.a Pourquoi la chlorophylle *a* ?

La chlorophylle *a* ($M_m = 892 \text{ g/mol}$) est un composé organique constitué d'un anneau porphyrique entourant un atome de magnésium et d'une chaîne carbonée hydrophobe (phytol). On la retrouve dans toutes les algues (à l'exception de certains prochlorophytes marins), ainsi que dans toutes les plantes aquatiques supérieures. Dans les cellules de phytoplancton, le rapport massique Organique/Chl *a* varie fort (~ 10 à 200), et il dépend de l'histoire de la cellule et des espèces. Par exemple, les dinoflagellés ont généralement des rapports C/Chl *a* plus élevés que les diatomées (Falkowski et Raven 1997). On considère toutefois la concentration en chlorophylle *a* d'un échantillon d'eau naturelle comme un bon indicateur de la biomasse d'une communauté d'espèces phytoplanctoniques.

2.4.2.b Pourquoi les phaeopigments?

Au sein du chloroplaste, la chlorophylle *a* est relativement stable mais elle peut se dégrader si elle est soumise à un rayonnement lumineux trop énergétique ou trop intense, ou si elle est libérée par destruction de la cellule (grazing, lyse). Elle se dégrade alors

rapidement pour produire des phaeopigments, principalement la phaeophytine *a*, la chlorophyllide *a* et les phaeophorbides *a*². Les phaeopigments sont généralement déjà présents comme pigments accessoires dans le chloroplaste, où ils jouent un rôle de photoprotection pour la chlorophylle *a*. Certains de ces pigments interfèrent lors des analyses fluorimétriques car ils absorbent et/ou émettent aux mêmes longueurs d'onde que la chlorophylle *a*, bien qu'avec une intensité moindre.

Chlorophylle *a*: Absorption $\lambda^{\max} = 430 \text{ nm}$ (et 660 nm)

Emission $\lambda^{\max} = 670 \text{ nm}$

Phaeophytine *a*: Absorption $\lambda^{\max} = 413 \text{ nm}$

Emission $\lambda^{\max} = 670 \text{ nm}$

Le problème peut être contourné en mesurant la concentration des phaeopigments. Toutefois la spéciation des phaeopigments reste problématique, puisque à ce jour il n'existe pas de méthode fluorimétrique simple qui permette de les différencier entre eux dans un échantillon d'eau naturelle. De plus, il existe encore d'autres produits de dégradation de la chlorophylle *a* présentant des spectres d'absorption et d'émission identiques mais que l'on ne distingue qu'au moyen de chromatogrammes sur couches minces-TLC (Hallegraeff et Jeffrey 1985) ou par HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

2.4.2.c Technique fluorimétrique

Principe

Les concentrations en chlorophylle *a* et en phaeopigments sont estimées par fluorimétrie selon une adaptation des méthodes proposées par Yentsch et Menzel (1963) et Strickland et Parsons (1972). Après absorption de la lumière à 430 nm, la chlorophylle *a* en solution dans l'acétone émet un photon à 670 nm. L'intensité de la fluorescence est proportionnelle à la concentration en chlorophylle *a*. La mesure est recommandée pour les phaeopigments après ajout d'acide. Au prix de quelques hypothèses explicitées ci-dessous, et par comparaison avec une droite d'étalonnage, les concentrations en chlorophylle *a* et en phaeopigments peuvent être recalculées.

² La phaeophytine *a* vient d'une molécule de chlorophylle *a* qui a perdu son atome de Mg (i.a. sous l'action de HCl). La chlorophyllide *a* dérive d'une molécule de chlorophylle *a* ayant perdu sa chaîne phytol (i.a. sous l'action de l'enzyme chlorophyllase). Les phaeophorbides *a* viennent de molécules de chlorophyllides *a* ayant perdu leur atome de Mg.

Mode opératoire

La chlorophylle *a* contenue dans les cellules de phytoplancton est recueillie par filtration (GF/F, porosité 0.8 µm) d'un échantillon d'eau immédiatement après son prélèvement. Le filtre est conservé au surgélateur et au noir dans un tube en plastique de 15 ml (tube à centrifuger). La veille de l'analyse, chaque tube est rempli de 10 ml d'un mélange acétone p.a.:eau mQ (90:10). Le jour de l'analyse, chaque échantillon est agité au vortex puis centrifugé au noir à 0 °C pendant 15 minutes à 4500 tours/min.

La cellule de mesure (5 faces) est remplie avec la solution à analyser et placée dans le spectrofluorimètre (Shimadzu RF-1501). L'intensité de fluorescence de la chlorophylle *a* est mesurée³. Pour chacun des étalons et des échantillons, la solution est ensuite acidifiée avec 100 µl de HCl 1 M afin de dégrader la chlorophylle *a* en phaeopigments. La mesure est à nouveau effectuée. En fin d'expérience, on a deux droites d'étalonnage (avant et après l'acidification, **figure 2.6**), et deux résultats par échantillon (idem).

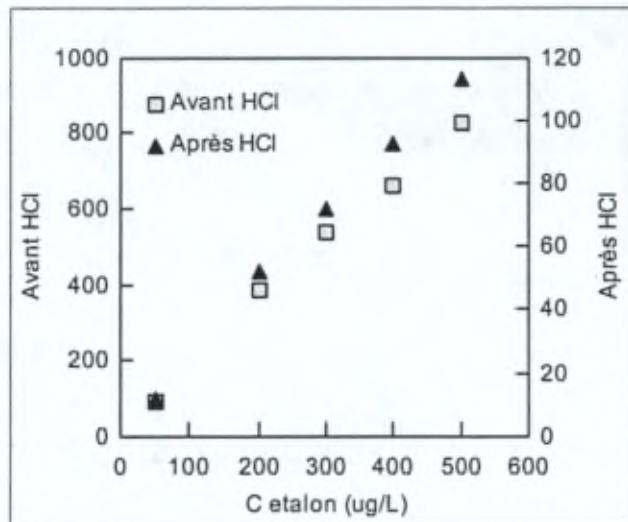


Figure 2.6: Droites d'étalonnage de la chlorophylle *a* avant acidification ($R^2=0.987$) et après acidification ($R^2=0.992$). L'intensité de fluorescence est représentée en fonction de la concentration en chlorophylle *a* de l'étaalon.

³ La saturation du spectromètre (intensité = 1015 u.a.) correspond à une solution de chlorophylle *a* pure d'environ 600 µg/l. Cependant dans l'estuaire de l'Escaut, on peut atteindre la saturation du spectromètre avec des concentrations moindres en raison de la présence de larges quantités de phaeopigments au départ. Il faut donc parfois diluer les échantillons avec le mélange acétone:eau.

Préparation des étalons

Une solution-mère de chlorophylle *a* pure 10 ppm est conservée au surgélateur et au noir. La préparation des étalons se fait par dilution d'un petit volume de la solution-mère avec un mélange acétone-eau (90:10).

Calcul des concentrations

Hypothèses:

- a) L'ajout de HCl transforme toute la chlorophylle *a* en phaeopigments
- b) Les solutions-étalons ne contiennent pas de phaeopigments au départ

Après avoir établi deux droites d'étalonnage, l'une en fonction de la concentration en chlorophylle *a* avant l'acidification, et l'autre après l'acidification, on pose que:

$$F_0 = \alpha_0 * C_{\text{Chl } a}$$

$$F_a = \alpha_a * C_{\text{Chl } a}$$

avec F_0 et F_a les intensités de fluorescence des étalons avant et après l'acidification respectivement, α_0 et α_a les coefficients angulaires des droites de régression avant et après l'acidification, et $C_{\text{Chl } a}$ la concentration en chlorophylle *a* contenue dans les étalons. Dès lors, les intensités de fluorescence mesurées pour chaque échantillon avant et après l'acidification peuvent être formulées comme:

$$F_0 = \text{fluorescence de chl } a + \text{fluorescence des phaeopigments naturels}$$

$$F_a = \text{fluorescence des phaeopigments issus de chl } a + \text{fluorescence des phaeopigments naturels}$$

$$F_0 = \alpha_0 * C_{\text{Chl-a}} + \alpha_a * C_{\text{Phaeo}}$$

$$F_a = \alpha_a * C_{\text{Chl-a}} + \alpha_a * C_{\text{Phaeo}}$$

avec C_{phaeo} la concentration des phaeopigments naturels présents initialement dans la solution. De ces deux équations, on retire l'expression des concentrations initiales:

$$C_{\text{Chl } a} = (F_0 - F_a) / (\alpha_0 - \alpha_a)$$

$$C_{\text{Phaeo}} = (\alpha_0 * F_a - \alpha_a * F_0) / \alpha_a * (\alpha_0 - \alpha_a)$$

2.4.3 Consommation communautaire d'oxygène dissous au noir

Plusieurs micro-organismes sont responsables de cette consommation dans la région d'Anvers, où se concentrent nos mesures: les bactéries hétérotrophes, les bactéries nitrifiantes, le phytoplancton (dans une moindre mesure), et le zooplancton (éliminé, voir plus bas). Ces organismes consomment également de la matière organique (bactéries hétérotrophes) ou de l'ammonium (bactéries nitrifiantes). Les concentrations en matière organique et en ammonium sont largement suffisantes dans cette région de l'estuaire pour ne pas perturber la mesure sur 24 heures (voir chapitre 3). En revanche, l'oxygène dissous peut venir à manquer durant l'incubation, tant son déficit est important dans le milieu naturel estuaire. Il y a donc lieu de procéder systématiquement à un bullage d'air dans l'eau de prélèvement avant la mesure.

La vitesse de consommation d'oxygène peut être estimée à l'aide d'une mesure cinétique de l'oxygène dissous à l'obscurité. L'eau du prélèvement est tamisée sur un filet pour éliminer le zooplancton, oxygénée par bullage pendant environ 10 minutes, puis redistribuée dans différents flacons "Winkler" (voir plus haut). Ceux-ci (environ cinq) sont placés au noir, à la température de l'Escaut. Les mesures sont faites successivement et à intervalles réguliers sur une durée de 24 heures. Les concentrations sont mises en graphe en fonction du temps, et la pente (négative) donne la vitesse de consommation communautaire d'oxygène au noir.

Chapitre 3

Biogéochimie de l'estuaire de l'Escaut

Introduction

La biogéochimie est une discipline qui intègre l'étude des conditions physiques, chimiques et biologiques pour caractériser un écosystème et comprendre sa dynamique. L'objectif de ce travail étant centré sur la production phytoplanctonique, la plupart des paramètres biogéochimiques ont été analysés pour situer ce processus dans le cadre plus général du fonctionnement de l'écosystème estuaire. Plus particulièrement, il s'agit ici d'identifier les facteurs de contrôle de la production primaire du phytoplancton dans l'estuaire de l'Escaut. Pour cela, nous analysons les résultats de plusieurs campagnes de mesures à l'échelle de l'estuaire, d'une part, et à l'échelle des saisons en un point fixe, d'autre part.

Nous commençons ce chapitre par une présentation sommaire des caractéristiques physiques de l'estuaire de l'Escaut (salinité, température, turbidité et matières en suspension). En particulier, la concentration des matières en suspension et la turbidité font l'objet de notre attention puisqu'elles déterminent la disponibilité lumineuse dans l'eau, facteur essentiel pour la photosynthèse. Les caractéristiques chimiques des eaux estuariennes sont ensuite discutées sur la base de nos résultats expérimentaux (pH, alcalinité totale, nutriments). Nos interprétations mettent surtout en évidence l'intense activité nitrifiante qui prend place dans l'estuaire, et que nous discutons sur la base de résultats d'incorporation de ^{14}C au noir. L'activité du phytoplancton dans l'estuaire est alors examinée par une double approche: mesures de biomasses (chlorophylle *a*) d'une part, mesures de production primaire (incorporation de ^{14}C) d'autre part. Les résultats de l'approche biogéochimique nous permettront d'aborder, dans les chapitres suivants, différents aspects de la production phytoplanctonique à l'aide d'expériences plus ciblées et de la modélisation.

3.1 Aspects physiques

3.1.1 Salinité

Le débit résiduel moyen de l'Escaut à l'embouchure (c'est-à-dire intégré sur un cycle tidal) s'élève à 5 millions de m^3 . Il correspond à l'apport moyen d'eau douce, soit $120 m^3.s^{-1}$. En comparaison, le volume d'eau de mer entrant dans l'estuaire durant le flot est d'environ 1 milliard de m^3 . L'estuaire de l'Escaut peut donc être considéré comme bien mélangé, malgré la présence locale de faibles gradients verticaux de salinité (Wollast 1988). La partie de l'estuaire entre la frontière belgo-néerlandaise (Doel ; ~ km 50) et la mer est constituée par des chenaux différents pour le flot et le jusant, ce qui contribue au mélange intensif. La partie en amont est réduite à un seul chenal étroit, et l'on observe près d'Antwerpen des gradients verticaux de salinité d'environ $0.2 m^{-1}$ (Wollast et Peters 1978). La zone de mélange des eaux douces et des eaux de mer s'étend sur 70 à 100 km à partir de l'embouchure et présente un net gradient longitudinal de salinité (figure 3.1)¹.

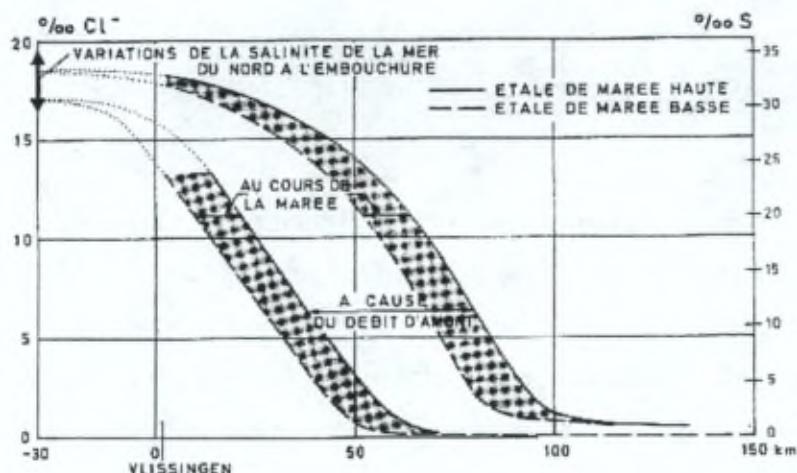


Figure 3.1 : Evolution longitudinale de la salinité dans l'estuaire de l'Escaut. L'allure de la courbe varie en fonction du débit d'amont et du cycle tidal (in Wollast 1976).

Le km 0 est généralement choisi de façon arbitraire à la hauteur de Vlissingen, à l'embouchure de l'Escaut (voir chapitre 2, figure 2.1). La salinité 35 est rarement atteinte dans les eaux de la baie sud de la Mer du Nord. La limite de pénétration des eaux de mer

¹ Dans ce chapitre, les figures sont rassemblées en deux groupes: celles qui sont présentées dans le texte (référencées comme *figures*), et celles qui sont présentées sur des feuilles en annexe (référencées comme *planches*). En raison du fait que les *planches* sont sollicitées à toutes les étapes de la discussion, leur caractère annexe devrait faciliter la lecture du chapitre. De plus, les *planches* ont pour avantage d'aligner des figures pouvant être comparées les unes avec les autres.

en amont de l'estuaire est plus floue en raison de la variation du débit d'amont. De manière générale, le minimum de salinité est atteint aux alentours du km 90 (Hemiksem). Dans le cadre de ce travail, nous scindons grossièrement l'estuaire de l'Escaut en trois domaines géographiques. L'estuaire amont contient des masses d'eau douce soumises à l'influence des marées en terme de hauteur d'eau. Il n'y a pas de pénétration des eaux de mer dans cette partie de l'estuaire. Ce domaine s'étend de Gentbrugge à la région Hemiksem-Antwerpen, à la limite de l'intrusion saline. La région oligohaline est délimitée par une salinité variant de 1 (limite de pénétration des eaux de mer) à 5. L'estuaire aval, aussi appelé zone marine, voit la salinité varier entre 5 et ~ 30 (Vlissingen).

L'évolution temporelle de la salinité en un point fixe à un moment spécifique de la marée, en l'occurrence l'étale de marée basse, montre une variation irrégulière, bien que marquée entre l'été et l'hiver (cf. planche F a). A l'échelle saisonnière, essentiellement deux facteurs influencent la salinité : le rapport entre pluviosité et évaporation, et le débit d'amont. Le rapport pluviosité/évaporation est plus petit en été qu'en hiver. Dans l'estuaire amont et la zone oligohaline, ceci se traduit par une augmentation de la salinité durant la période estivale, et par une diminution en hiver. De plus, le débit d'amont est moins important en été qu'en hiver. En effet, ce débit peut varier de $20 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ pendant l'été à $400 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ en hiver, avec des maxima vers $750 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ (planche F c). On notera que les fluctuations du débit d'amont entraînent de plus amples variations de salinité (à Sint-Anna) en été qu'en hiver. Cela découle de la distribution longitudinale de la salinité (cf. figure 3.1) qui entraîne des excursions de salinité beaucoup plus limitées en période de haut débit dans cette région.

La dilution des eaux douces dans les eaux de mer entraîne une évolution longitudinale des concentrations en matières dissoutes et particulières le long de l'estuaire. En vertu de ses propriétés conservatives, la salinité est le marqueur idéal des masses d'eau. C'est pourquoi les résultats recueillis dans l'estuaire sont généralement représentés en fonction du gradient longitudinal de la salinité. Cela permet de mettre en évidence le caractère conservatif ou non des matières dissoutes et en suspension étudiées. Le caractère conservatif d'une espèce se marque par une évolution linéaire de la concentration le long du gradient de sel. Par contre, les espèces non-conservatives présentent une dépendance non-linéaire de leur concentration en fonction de la salinité. Si l'espèce non-conservative est consommée dans le système, le profil longitudinal de concentration sera incurvé vers les basses concentrations. Inversement, le profil des concentrations sera incurvé vers le haut lorsque l'espèce non-conservative est produite dans le système. Des effets de non-

stationnarité (variations du débit d'amont, ou apports latéraux variables) peuvent toutefois compliquer ce schéma simple.

3.1.2 Température

La température des eaux présente un profil longitudinal assez uniforme entre l'amont et l'aval (planche C a). Durant la période d'observation, la température des eaux de l'Escaut en un point fixe a suivi l'évolution saisonnière classique avec un maximum à 23°C (planche F b). On notera à la figure 3.2 le déphasage existant entre la courbe annuelle de la température et celle de l'irradiance solaire à midi, en l'absence de nuage. Ici, l'irradiance E_0 est calculée théoriquement à l'aide d'une routine astronomique classique, qui tient compte par ailleurs du facteur PAR et de l'absorption atmosphérique de l'énergie solaire incidente.

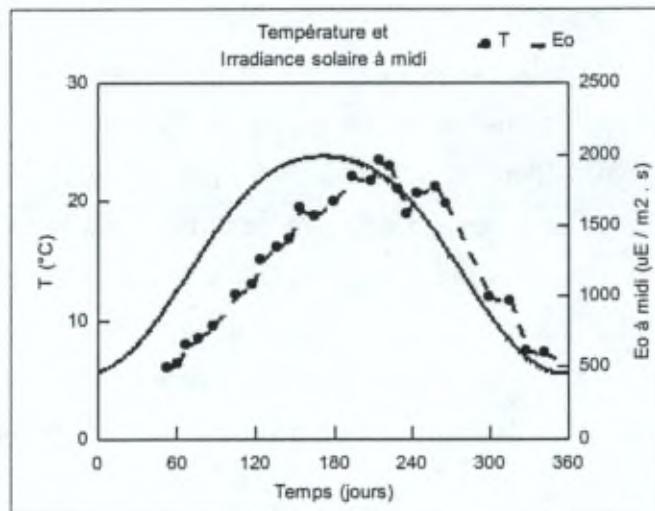


Figure 3.2 : Evolutions annuelles de la température (T) observée et de l'irradiance solaire théorique à midi (E_0), en l'absence de nuage, dans l'estuaire de l'Escaut à Sint-Anna (Antwerpen).

Le maximum de température se produit le jour 214 (02/08/99), tandis que le maximum d'irradiance solaire à midi le précède de 43 jours, i.e. jour 171 (20/06/99).

3.1.3 Turbidité et matières en suspension

3.1.3.a Variation temporelle

Les évolutions temporelles de la concentration des matières en suspension (MES) et de la turbidité mesurées chaque semaine en un point fixe (non représentées) ne se prêtent pas à une interprétation simple. Dans l'estuaire de l'Escaut, la turbidité est très fluctuante tant aux petites qu'aux grandes échelles de temps. Les fluctuations instantanées de la turbidité sont liées à la turbulence locale. A l'échelle des marées, la turbidité varie en fonction des vitesses de courant (voir chapitre 7). A l'échelle saisonnière, enfin, les variations de turbidité sont essentiellement dues aux alternances de crues et de débits d'étiage. Dans un système aussi dynamique, notre stratégie de mesure sur une base hebdomadaire n'est donc pas la mieux adaptée à la mesure de la turbidité, ou des matières en suspension.

3.1.3.b Variation longitudinale

A l'échelle locale, des expériences conduites sur le ponton de Sint-Anna à Antwerpen (Verbanck M. comm.pers.) montrent que la distribution spatiale des MES est également sujette à une forte dispersion. Toutefois, à l'échelle de l'estuaire, les distributions longitudinales des MES et de la turbidité redeviennent interprétables en termes de grandes tendances. La planche A b représente les variations longitudinales du coefficient d'atténuation verticale de la lumière dans l'eau (k_d) et des MES dans la partie amont de l'estuaire. Le graphe met en évidence deux pics de turbidité (km 95 et 130). La turbidité élevée est maintenue dans l'estuaire à cause d'une part des sources importantes de matières en suspension (d'origine continentale et marine), et d'autre part du jeu entre la distribution des courants et la dynamique de sédimentation-resuspension des matières particulières (Guézennec et al. 1999; Verbanck 2003; Larcy 2004).

La zone de turbidité maximum située au km 95 est la même que celle observée sur la planche C b aux faibles salinités. Dans la zone oligohaline, l'accumulation de particules a été attribuée au phénomène du "piégeage hydrodynamique" (Peters 1972; Wollast 1976; Wollast et Peters 1978). En tout point de la colonne d'eau, les vitesses instantanées du courant peuvent être intégrées sur un cycle de marée pour donner la vitesse du courant résiduel. On peut montrer que dans l'estuaire aval, les vitesses de courant résiduel au voisinage du fond sont dirigées vers l'amont. Mais dans l'estuaire amont, elles sont dirigées vers l'aval. Ces deux tendances s'annulent dans la région d'Antwerpen, c'est-à-dire près de la zone de transition entre les eaux douces et saumâtres (Wollast 1973; Wollast 1988). Cette région est donc propice à l'accumulation de sédiments qui

contribuent à former et à entretenir le maximum de turbidité. La sédimentation est éventuellement favorisée par la flocculation des matières particulières. Une partie des matières en suspension flocculeraient dans la zone oligohaline à cause de l'augmentation de la salinité entre 1 et 2.5 (Wollast 1976); bien que ce mécanisme ait été plus récemment remis en question (Fettweis et al. 1998). Dans l'estuaire de l'Escaut, d'autres facteurs peuvent favoriser la flocculation comme, par exemple, la présence de matière organique en quantité suffisante (Fettweis et al. 1998; K. Muylaert comm.pers.). Les pics de turbidité relevés plus en amont (km 130, planche A b) ont une origine différente. La plus plausible est liée à des phénomènes transitoires tels que la propagation d'une crue chargée en MES. Certains auteurs expliquent par des mécanismes de "retard à la sédimentation" et de "retard à l'érosion" le fait que des suspensions puissent remonter l'estuaire de l'aval vers l'amont dans des zones non-stratifiées (Van Straaten et Kuenen 1958). Ces mécanismes ne peuvent cependant pas justifier l'existence d'un maximum de turbidité.

3.1.3.c Corrélation entre MES et pénétration lumineuse

En tout point de l'estuaire, la concentration des matières en suspension est généralement bien corrélée avec le coefficient d'atténuation verticale (k_d) de la lumière dans l'eau (voir chapitre 7). Une relation linéaire empirique permet d'établir un lien direct entre la concentration des matières en suspension et la pénétration lumineuse. Une autre manière d'évaluer la transparence de l'eau est de recourir à la technique du disque de Secchi (Effler 1988). La figure 3.3 ci-dessous corrèle les valeurs des concentrations en MES et des profondeurs de Secchi (Z_s) mesurées à Sint-Anna pendant deux ans. La relation entre Z_s et la concentration en MES est une loi de décroissance présentant une asymptote aux hautes concentrations en MES.

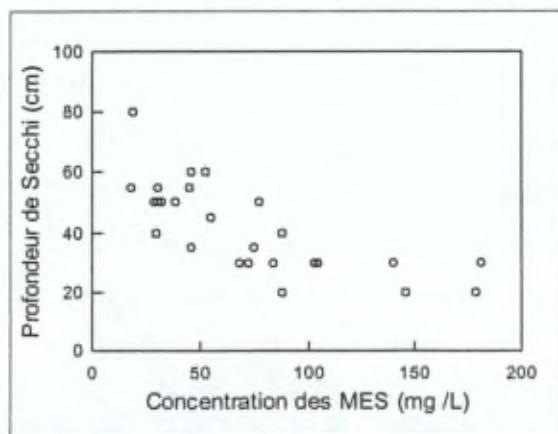


Figure 3.3 : Représentation de la profondeur de Secchi en fonction de la concentration des matières en suspension à Sint-Anna en 1999-2000.

Il est difficile d'interpréter cette relation entre MES et Zs. Hormis l'influence des matières dissoutes, la pénétration lumineuse dans l'eau dépend de la distribution des tailles des particules, ainsi que de leurs propriétés optiques (Kirk 1994). Nous pouvons cependant avancer un argument pour expliquer la courbure et la stabilisation de Zs. Les concentrations élevées en MES sont généralement associées à des événements au cours desquels les masses d'eau charrient de nombreux débris macroscopiques (débris de feuilles, agrégats, brindilles,...). Or ceux-ci ont la propriété d'altérer fort la masse de la suspension, tout en modifiant peu la pénétration lumineuse dans l'eau.

3.1.3.d La turbidité en tant que facteur limitant la production primaire

Dans l'estuaire de l'Escaut, les matières en suspension jouent un rôle capital dans la limitation de la production primaire car leur concentration élevée provoque une atténuation rapide de la lumière dans la colonne d'eau. La faible pénétration lumineuse dans l'eau défavorise le développement des producteurs phototrophes en limitant la zone euphotique¹. Dans l'estuaire de l'Escaut, la profondeur euphotique varie généralement de 20 cm à 2 m selon la turbidité des eaux. L'activité photosynthétique est donc confinée dans une couche de faible épaisseur sous la surface. Mais dans le contexte d'un mélange vertical, il faut aussi tenir compte de la profondeur de mélange². Dans l'Escaut, l'absence de forte stratification verticale implique que la profondeur de mélange peut être considérée comme équivalente à la profondeur totale de la colonne d'eau. Celle-ci s'échelonne entre 3 et 25 m dans le chenal principal, où elle excède toujours la profondeur euphotique, parfois largement. Les cellules de phytoplancton sont donc régulièrement entraînées par le mouvement des masses d'eau hors de la zone euphotique. Elles traversent alors une période d'obscurité dont l'étendue dépend de la vitesse de mélange et du rapport « profondeur euphotique : profondeur de mélange » (Grobbelaar 1985; Cullen et Lewis 1988). Pendant ce temps, le catabolisme au noir leur permet de maintenir un métabolisme de base. Le bilan entre ce catabolisme au noir et la photosynthèse devient défavorable à la croissance du phytoplancton lorsque des valeurs critiques du rapport « profondeur euphotique : profondeur de mélange » sont atteintes (Cullen et Lewis 1988). Cette discussion fera l'objet d'une étude approfondie au chapitre 7.

¹ On définit la zone euphotique comme celle où la photosynthèse est possible. Empiriquement, on associe à la zone euphotique une profondeur euphotique prise comme celle où l'irradiance vaut 1% de l'irradiance solaire incidente à la surface.

² La profondeur de mélange délimite la zone de la colonne d'eau dans laquelle les eaux circulent verticalement en dessous de la surface.

3.2 Aspects chimiques

3.2.1 Les nitrates et les nitrites

Les eaux de l'Escaut sont enrichies en nitrates par le lessivage des engrains ainsi que par la nitrification. Dans l'estuaire, les nitrates sont consommés par les bactéries dénitritifiantes, en condition anoxique, et par le phytoplancton (figure 3.4). Toutefois, ce dernier incorpore préférentiellement l'azote ammoniacal qui possède un état d'oxydation identique à celui de l'azote organique. L'ammonium est produit par la minéralisation de la matière organique (ammonification), et est consommé par le phytoplancton et les bactéries nitrifiantes. L'ammonification, la nitrification, et la dénitritification dans une moindre mesure, contrôlent pour l'essentiel la distribution des espèces azotées dans l'estuaire de l'Escaut (Vanderborght et al. 2002). En vertu du fait que la dénitritification se produit en conditions anoxiques, elle a surtout lieu dans les sédiments et dans les agrégats de matières en suspension, où ces conditions peuvent être rapidement atteintes (Kromkamp et al. 1995).

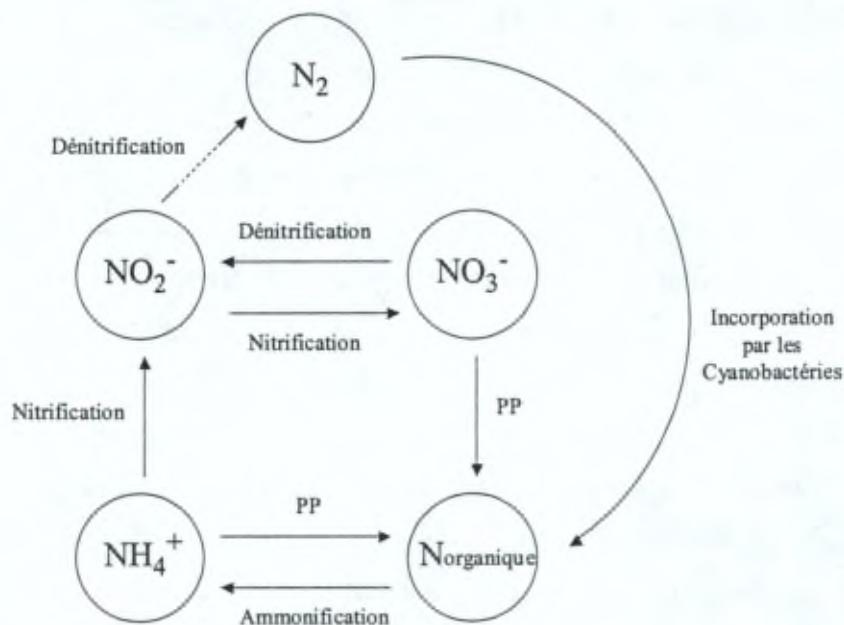


Figure 3.4 : Processus de transformation de l'azote (PP = production phytoplanctonique). Voir aussi Table 3.1 pour les équations stoechiométriques d'une partie des processus repris ici.

La concentration des nitrates augmente aux endroits et aux moments où les ions ammonium voient leur concentration diminuer (planches B, D et G). Ces transformations ont principalement lieu durant l'été dans l'estuaire amont et dans la région oligohaline. Les évolutions longitudinales des nitrates montrent que ceux-ci sont abondants dans l'ensemble de l'estuaire, à l'exception de l'estuaire externe à la salinité 30 (planches B c et D c). Sur l'évolution temporelle (planche G a), la concentration en nitrates présente deux minima saisonniers. L'augmentation observée pendant la période estivale est due à la nitrification. Le profil des nitrites est délicat à interpréter puisque cette espèce est impliquée comme intermédiaire dans les processus de nitrification et de dénitrification. Les nitrites présentent généralement des concentrations d'un ordre de grandeur plus petites que celles des nitrates. La grande variabilité de cette espèce au cours du temps (planche G c) peut être attribuée à une activité importante des bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes, ainsi qu'aux variations saisonnières de la salinité. C'est particulièrement visible lorsqu'on représente le rapport entre les nitrites et l'azote total en fonction de la salinité (figure 3.5). Ce rapport NO_2^-/DIN permet de considérer l'évolution des nitrites en faisant abstraction de la perte nette d'azote due à la dénitrification.

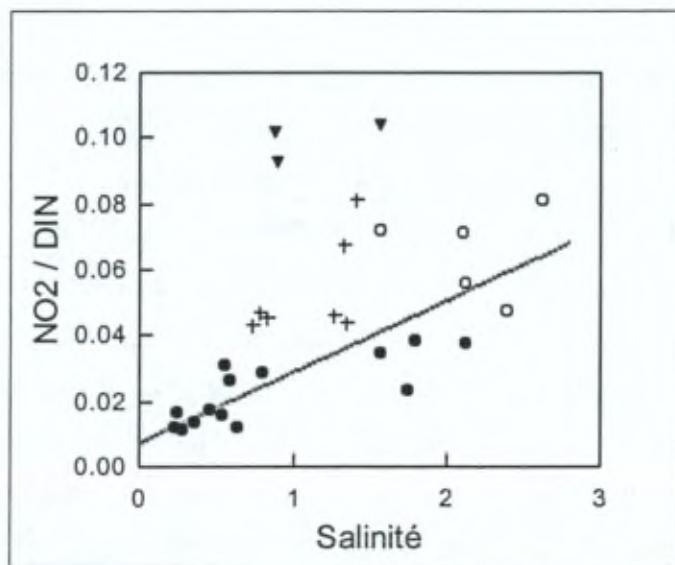


Figure 3.5 : Rapport entre les nitrites et le DIN mesurés au cours du temps (à Sint-Anna) en fonction de la salinité. Les résultats sont les mêmes qu'à la planche G (c) et (d). Les cercles pleins représentent les résultats obtenus en dehors de l'intervalle mai-septembre. Ils sont donc moins influencés par la nitrification. Les cercles creux se différencient des croix par le fait que la concentration en NH_4^+ est plus petite que $100 \mu\text{M}$ et que, par conséquent, l'influence de la nitrification devrait être réduite. Les triangles représentent les données recueillies au moment des crues d'été. La ligne grise représente la droite de régression ($r^2 = 0.68$) pour les résultats qui subissent le moins l'influence de la nitrification (cercles pleins et creux).

Le rapport NO_2^-/DIN montre une évolution linéaire en fonction de la salinité, sauf pour les résultats fortement influencés par la nitrification ou les crues. Les légères crues d'été ont pour effet d'augmenter la concentration des nitrites (planche G c), sans modifier significativement celle du DIN (planche G d). Bien entendu, l'augmentation du débit a aussi pour effet de diminuer la salinité (planche F a et c). C'est pourquoi, à la figure 3.5, les triangles sortent totalement de l'évolution générale, et sont décalés vers la gauche.

3.2.2 L'azote ammoniacal

La consommation de l'ammonium prend totalement place dans l'estuaire amont, ainsi que dans la zone oligohaline (planches B et D). Cela montre que l'activité nitrifiante est concentrée à l'amont plutôt qu'à l'aval. L'azote rejeté en mer se trouve donc à 85-90 % sous forme nitrate. Sur le profil temporel, la concentration en ammonium tombe presque à zéro durant l'été (planche G b). La concentration minimum observée est de 25 μM , le jour 214 (02/08/99). Cet appauvrissement de l'ammonium est essentiellement dû à la nitrification, et pour une bien moindre part à la photosynthèse (Vanderborgh et al. 2002; pour les bilans entre les différents processus, voir aussi le chapitre 8).

3.2.3 L'azote inorganique total

Les évolutions longitudinales de l'azote inorganique total (DIN) (planche D a) montrent que celui-ci est pratiquement conservatif dans l'estuaire, sauf dans les zones amont où la dénitrification en élimine une partie vers l'atmosphère. En effet, le DIN suit généralement bien la droite de dilution, en particulier durant l'hiver. En juillet cependant, tant pour le DIN que pour les nitrates, ce comportement systématique n'est pas observé entre les salinités 0 et 7. La baisse de DIN et de nitrates observée aux faibles salinités peut être attribuée au mélange des eaux de l'Escaut avec les eaux du Rupel pauvres en oxygène dissous. Au sein du Rupel, les conditions sont suffisamment anoxiques, suite à la respiration de la matière organique, pour inhiber la nitrification et favoriser la dénitrification. Dans l'estuaire, avec l'augmentation de la concentration en oxygène dissous, c'est l'inverse qui se produit: la dénitrification devient inhibée, et la nitrification s'intensifie. A cause du mélange des eaux à la confluence, le Rupel joue le rôle d'un puit pour le DIN présent dans la région oligohaline de l'estuaire (planche D a). Cet effet est également visible sur le profil des nitrates (planche D c), substrat de départ de la dénitrification, bien que ce profil soit également fortement influencé par la nitrification (voir plus haut).

L'évolution temporelle du DIN à Sint-Anna (planche G d) montre également une diminution de la concentration en azote durant l'été qui peut être expliquée par ce processus de mélange lié à la confluence avec le Rupel. Il faut noter que cela n'exclut pas une contribution de la dénitrification dans la colonne d'eau de l'estuaire, plus spécialement au sein des agrégats de matières en suspension (Kromkamp et al. 1995).

3.2.4 DIC, pH et alcalinité totale

La concentration élevée en carbone inorganique dissous (DIC) des eaux d'amont est attribuable à la respiration hétérotrophe de la matière organique d'origine anthropogénique. La dissolution des roches calcaires du bassin ne contribue que de façon mineure à ce bilan (Abril et Frankignoulle 2001). Dans l'estuaire de l'Escaut, la majeure partie des variations de l'alcalinité totale (Talk, équation 3.1) est attribuable à l'ammonification, à la nitrification et à la dénitrification, selon les équations reprises à la table 3.1. Etant donné qu'une partie significative de l'ammonification prend place dans les eaux usées et dans les affluents d'amont, le bassin estuaire reçoit des eaux d'alcalinité élevée. Cette valeur élevée provient aussi, pour une partie, de la décomposition de la matière organique en conditions anaérobies (e.g. par sulfato-réduction).

$$\text{Talk} = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{OH}^-] - [\text{H}^+] \quad \text{éq. 3.1}$$

Dans cette équation, les concentrations des ions H^+ , OH^- ($\sim 10^{-7}$ M), et CO_3^{2-} ($\sim 10^{-5}$ M) sont pratiquement négligeables en comparaison de la concentration en bicarbonate ($\sim 10^{-3}$ M). Les variations respectives de l'alcalinité totale et de la concentration en bicarbonate sont donc en correspondance étroite dans l'estuaire de l'Escaut. Les borates présents dans l'eau de mer ($\sim 0.4 \cdot 10^{-3}$ M) ne sont pas pris en considération ici pour ce qui concerne les variations d'alcalinité totale, étant donné leur caractère conservatif dans l'estuaire.

Changement
de Talk

Processus

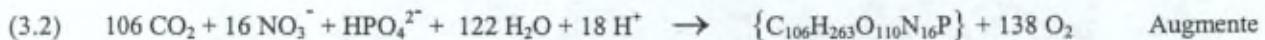
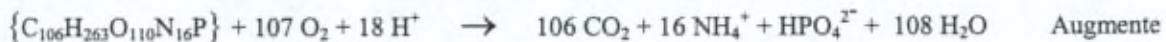
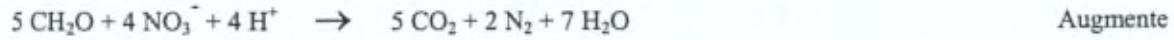
Photosynthèse*Respiration (ammonification)**Respiration (ammonification + nitrification)**Nitrification**Dénitrification**Sulfatoréduction*

Table 3.1: Principaux processus affectant l'alcalinité dans l'estuaire de l'Escaut (d'après Stumm et Morgan 1996).

Les graphes des évolutions longitudinales de Talk, du pH et du DIC dans l'estuaire amont sont présentés aux planche A f et h. Dans cette région, la production nitrifiante élevée est à l'origine de la diminution du pH et de l'alcalinité totale (Frankignoulle et al. 1996; voir aussi chapitre 8). Lorsque l'ammonium est transformé en nitrite, puis en nitrate, la libération de protons (2 H⁺ par N transformé) perturbe l'équilibre des carbonates. Le

bicarbonate, qui constitue de loin l'espèce carbonatée majoritaire en milieu naturel (de 80 à 90 % du DIC selon la température), se transforme alors en acide carbonique dissous. L'acide carbonique se dissocie en eau et en gaz carbonique, lequel se dégage vers l'atmosphère. Cette transformation tamponne en grande partie la variation du pH, qui diminue néanmoins quelque peu au cours du processus. Cette diminution est illustrée à la planche A f pour l'estuaire amont. En revanche, l'alcalinité totale diminue significativement (équation 3.1) à cause des équivalents de bicarbonates transformés en acide carbonique dissous. La diminution du DIC observée à la planche A h est principalement due au dégazage du CO₂ vers l'atmosphère. A la planche A f, l'augmentation du pH au km 95 (Temse) peut être liée à une augmentation de l'activité photosynthétique. Cela expliquerait l'augmentation simultanée de la concentration en O₂ dissous à cet endroit (planche A g). Etant donné que cette activité photosynthétique n'est pas reflétée sur le graphe de la chlorophylle *a* (planche A e), nous pensons à une influence locale des eaux de la Durme. Celle-ci se jette dans l'estuaire un peu plus en amont de ce point, et elle abrite des populations de macrophytes qui ne sont pas transportées vers l'estuaire.

A partir d'un seuil situé selon le débit d'amont à une distance de 70 à 100 km de l'embouchure, le mélange des eaux douces et des eaux salines commence à diluer l'alcalinité totale et le DIC. Les graphes des évolutions longitudinales du DIC, du Talk et du pH dans l'estuaire aval sont présentés à la planche C (c, e, f). Comme expliqué ci-dessus, le processus de nitrification a pour effet de diminuer le pH et l'alcalinité totale. Cette diminution est essentiellement visible dans la zone oligohaline, où se termine la nitrification de l'azote ammoniacal (planche D b). La diminution du DIC aux faibles salinités est liée au dégazage de CO₂, dû à la sursaturation des eaux en dioxyde de carbone (planche C g). Entre les salinités 5 et 15, l'augmentation du pH est directement liée à la diminution de la pression partielle en CO₂, et l'alcalinité totale reste conservative. A l'exception de la zone oligohaline, les évolutions longitudinales du DIC et de l'alcalinité totale suivent la droite de dilution classique.

Les évolutions temporelles du pH, du DIC et du Talk sont reprises à la planche F (e, g, i). Les variations du DIC entre le printemps et l'automne peuvent être attribuées principalement aux échanges eau-atmosphère. La diminution de DIC observée en janvier 2000 (~ jour 390) serait plutôt due à une dilution liée aux crues importantes propres à cette période de l'année (planche F c). La diminution importante de l'alcalinité entre mai 1999 (jour 150) et septembre 1999 (jour 270) est la conséquence de la nitrification qui tend à acidifier le milieu (Frankignoulle et al. 1996). L'évolution du pH au cours du temps

est limitée à de petites variations en raison de l'effet tampon des espèces carbonatées. Les grandes variations du printemps 1999 sont attribuées aux importantes variations du débit d'amont.

3.2.5 Les phosphates

Le comportement des orthophosphates dans l'estuaire de l'Escaut est lié à différents mécanismes d'adsorption, de désorption et de co-précipitation avec les particules solides (oxyhydroxydes de fer, principalement) dans la colonne d'eau et dans les sédiments (Zwolsman 1994). L'adsorption et la désorption des phosphates s'effectuent très rapidement à la surface des particules et dépendent, entre autres, de la nature anoxique du milieu. Ce processus qui joue un rôle important dans la régulation de la concentration en orthophosphates dans les rivières est connu comme "le mécanisme tampon du phosphate" (Froelich 1988). Par ailleurs, il faut noter que les orthophosphates sont également incorporés par le phytoplancton et recyclés par les bactéries hétérotrophes.

L'évolution temporelle des concentrations en orthophosphates est montrée à la planche G f. Durant l'hiver, les concentrations en phosphates dissous sont au plus bas mais elles augmentent progressivement au début du printemps jusqu'à la fin de l'automne. Les apports en phosphate proviennent pour une part des eaux usées, et pour une autre part des sédiments (Wollast 1982). Dans la zone oligohaline, la haute teneur en phosphates entre le printemps et l'automne peut s'expliquer par la nature anoxique des sédiments. La dissolution des oxyhydroxydes de fer en Fe^{2+} est vraisemblablement responsable du retour des phosphates en solution depuis les sédiments, pendant cette période. Inversement en hiver, lorsque les concentrations en oxygène dissous réaugmentent (planche F d), nous enregistrons une diminution de la concentration en phosphates qui pourrait correspondre à une précipitation des oxyhydroxydes de fer entraînant la disparition des phosphates de la phase dissoute par adsorption ou co-précipitation. Le phosphate qui co-précipite s'accumule par sédimentation et n'est pas transporté vers la zone côtière (Wollast 1982).

Les évolutions longitudinales des orthophosphates (planches B f et D e) sont plus difficiles à interpréter. On serait tenté d'invoquer le même mécanisme de co-précipitation pour expliquer la diminution des orthophosphates dans la région oligohaline (planche D e), lorsque l'oxygène dissous voit sa concentration augmenter par suite du mélange des eaux d'amont avec les eaux d'aval (planche C h). A l'encontre de cette hypothèse, les profils d'orthophosphates sont fort semblables en hiver et en été, tandis que ceux de l'oxygène dissous sont différents. Signalons toutefois qu'à la planche D (e), les points

correspondant aux plus faibles salinités peuvent refléter un apport direct d'orthophosphates par le Rupel, suivi d'une précipitation assez rapide.

3.2.6 La silice dissoute

Wollast et De Broeu (1971) ont étudié le comportement de la silice dans l'estuaire de l'Escaut et ont conclu que l'incorporation de la silice dans la kaolinite (particules argileuses en suspension) ne pouvait pas expliquer à elle seule la diminution importante de la concentration en silice observée durant l'été. Ils en ont déduit que la perte de silice observée dans l'Escaut est essentiellement liée à l'activité des diatomées, qui est importante de juin à septembre. Ces résultats sont en accord avec les observations de Muylaert (Muylaert, Sabbe et al. 2000), selon lesquelles les populations de l'estuaire sont principalement composées de diatomées.

L'évolution longitudinale dans l'estuaire amont montre une diminution de la silice précisément là où on observe le maximum d'oxygène dissous (planches A g et B e). Aux faibles salinités, le profil de silice affiche une consommation qui est en coïncidence avec le maximum de chlorophylle *a* (planche D f et E e). Le graphe de l'évolution temporelle montre de basses concentrations en silice pendant l'été (planche G e). Durant cette saison, on peut se demander si la silice limite la croissance des diatomées. A Sint-Anna, la concentration minimum observée pendant notre campagne est de 50 µM, ce qui est encore largement au-dessus des valeurs de la constante de Michaëlis-Menten ($K_{MM} \sim 1 \text{ à } 3 \mu\text{M}$; Bowie et al. 1985). Cette constante pourrait cependant être plus élevée et atteindre 10 µM pour les diatomées de l'estuaire de l'Escaut (Muylaert comm. pers.). Même dans ce cas, la concentration en silice observée reste toujours supérieure à K_{MM} . Signalons toutefois que certaines années, la concentration en silice peut être inférieure à 10 µM dans l'estuaire amont (V. Carbonnel comm.pers.), ainsi qu'à l'embouchure (Vlissingen). Dans ces circonstances, on s'attend à ce que la croissance des diatomées soit fortement ralentie durant l'été.

Une question importante est de savoir dans quelle mesure la silice biogénique, contenue dans les frustules de diatomées, subit une redissolution au sein de l'estuaire. Une telle source potentielle de silice pourrait alimenter la floraison des diatomées durant l'été. Ces frustules sont entourées d'une gaine organique (Swift et Wheeler 1992) qui ralentit considérablement le processus de redissolution : il faut attendre la biodégradation de cette gaine par les bactéries hétérotrophes avant d'observer la dissolution de la silice biogénique (Bidle et Azam 1999; Bidle et Azam 2001). Par conséquent, les frustules de

diatomées mortes depuis longtemps ont plus de chances d'être exposées à la redissolution. L'évolution de la concentration en silice mesurée lors d'incubations au noir à différentes salinités sur des eaux prélevées en juillet 2000 dans l'estuaire aval peut fournir quelques indications à ce sujet (planche Si) : on pourrait interpréter les faibles vitesses obtenues aux basses salinités comme le résultat d'une redissolution peu importante de la silice biogénique dans la zone oligohaline. Les vitesses de dissolution plus élevées observées aux hautes salinités pourraient alors correspondre à des frustules débarrassées de leur gaine organique, qu'elles soient d'origine estuarienne ou marine. Ces résultats doivent toutefois être interprétés avec prudence pour deux raisons : 1°) les vitesses calculées ne sont pas normalisées par rapport à la quantité de silice biogénique (surface spécifique), 2°) une incorporation de silice par les diatomées au noir n'est pas exclue en raison du découplage entre le métabolisme de la silice et celui du carbone (Claquin et al. 2002; Hildebrand 2002). Il faut encore ajouter que l'augmentation de la force ionique due à la salinité favorise la dissolution de la silice (Plettenck et al. 1994)¹.

3.2.7 Consommation des nutriments par le phytoplancton

L'estimation de la consommation des nutriments par le phytoplancton est très difficile à évaluer à partir des résultats expérimentaux présentés jusqu'à présent. A l'inspection des profils temporels, on pourrait penser que les variations de l'ammonium (planche G b) ou du DIC (planche F g) sont essentiellement dues à la production phytoplanctonique. Mais l'analyse des profils longitudinaux rappelle que la situation est plus complexe. En faisant l'approximation grossière que le système estuarien est stationnaire, et en admettant que la concentration en silice dans la zone oligohaline est uniquement affectée par la production phytoplanctonique, on peut prendre le profil longitudinal de la silice (planche D f) comme un étalon de la consommation des nutriments par le phytoplancton (à tout le moins aux faibles salinités). Or les profils longitudinaux des autres nutriments NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3-} dans la zone oligohaline (respectivement planche D b, c, e) s'écartent notablement de celui de la silice. Cela montre bien que d'autres processus sont à l'oeuvre, qui influencent les concentrations en azote et en phosphore au point de rendre indéchiffrable la consommation des nutriments par le phytoplancton. Quant au DIC (planche C c), sa diminution aux faibles salinités est trop importante pour n'être due qu'à la consommation phytoplanctonique (nous avons vu plus haut que cette diminution est surtout liée au dégazage de CO_2 vers l'atmosphère). L'estimation de la consommation des nutriments par

¹ Ces thèmes font actuellement l'objet d'une étude conjointe entre le laboratoire d'Océanographie Chimique et Géochimie des Eaux (prof. L. Chou) et l'unité de recherche Ecologie des Systèmes Aquatiques (prof. C. Lancelot).

le phytoplancton ne peut être évaluée qu'à l'aide d'un modèle. Des bilans issus d'un modèle de transport-réaction de l'estuaire sont présentés au chapitre 8.

3.3 La production nitrifiante

En raison des quantités importantes d'ammonium en provenance de l'amont, la nitrification se développe de manière intense dans l'estuaire de l'Escaut (Brion 1998; Vanderborgh et al. 2002). Le processus de nitrification se déroule en deux étapes menées par deux groupes différents de bactéries chémoautotrophes. Les premières oxydent l'ammonium en nitrite (*Nitrosomonas*) et les secondes oxydent les nitrites en nitrates (*Nitrobacter*). Des expériences d'incorporation de ^{14}C au noir peuvent servir à estimer la production nitrifiante dans l'estuaire de l'Escaut (Billen 1976). En admettant que l'essentiel de l'incorporation de ^{14}C au noir est attribuable à la nitrification, on peut approcher théoriquement la vitesse de transformation de l'azote. Etant donné le faible rendement de la réaction, de grandes quantités d'azote doivent être oxydées pour incorporer un atome de carbone. D'après Billen (1976) et Feliatra & Bianchi (1993), le rapport N_{Oxydé}:C_{incorporé} s'échelonne entre 10 et 15 pour les consommateurs d'ammonium et entre 30 et 50 pour les consommateurs de nitrite. Nous avons fait une estimation de la vitesse d'oxydation de l'ammonium à partir des vitesses d'incorporation de ^{14}C au noir (planche E d) dans la région oligohaline, où l'on observe la décroissance de l'ammonium. En partant du principe que la transformation des NH_4^+ en NO_3^- est complète dans la zone oligohaline (voir les résultats obtenus planche D b et c), et en considérant que les vitesses d'oxydation de NH_4^+ et de NO_2^- sont égales, la vitesse de nitrification est comprise entre 0.7 et 6.9 $\mu\text{M-N.h}^{-1}$ en été dans la région oligohaline. Dans les mêmes conditions, Middelburg et Nieuwenhuize (2000) ont mesuré une vitesse d'incorporation de $^{15}\text{NH}_4^+$ égale à 0.8 $\mu\text{M-N.h}^{-1}$. Ce dernier résultat est compatible avec les nôtres, compte tenu de nos approximations et des erreurs liées à la technique. Il faut préciser que nous ne tenons pas compte des bactéries hétérotrophes, qui peuvent également incorporer du carbone au noir par voie anaplétotique (environ 8 % de l'incorporation totale de ^{14}C au noir dans l'Escaut, Billen 1976). Nous aborderons au chapitre 6 la question de savoir si le phytoplancton incorpore ou non du carbone au noir dans la région oligohaline de l'Escaut.

Comme montré plus haut, l'activité nitrifiante dans l'estuaire est clairement mise en évidence sur les graphes des concentrations en nutriments (planches B, D et G). Brion et al. (2000) font l'hypothèse que, dans la colonne d'eau de l'estuaire, les populations bactériennes sont fixées sur les matières en suspension, et que par conséquent, la

nitrification est généralement élevée dans les régions de haute turbidité. L'incorporation de ^{14}C au noir que nous observons est également importante dans ces régions: à partir de Dendermonde (planche A d) jusque dans la zone oligohaline (planche E d). Les maxima observés (planches A d, E d, et H d) sont toujours en coïncidence avec un minimum de l'ammonium et un maximum des nitrates. Cette correspondance dans nos résultats, entre les transformations des espèces azotées et l'incorporation de ^{14}C au noir, tend à confirmer qu'une part essentielle de la production au noir est liée à la nitrification.

Au vu de l'ensemble des graphes, on peut noter que la nitrification est bien plus importante en été qu'en hiver, ce qui est en accord avec la nette influence de la température sur les activités bactériennes (pour la dépendance de *Nitrosomonas* et de *Nitrobacter* par rapport à la température, voir par exemple Brion 1998; Grunditz et Dalhammar 2001). Les valeurs de production au noir observées en été (entre les jours 210 et 270 ; planche H d) sont très probablement limitées par la faible concentration en NH_4^+ (planche G b). La constante de Michaelis-Menten $k_m\text{NH}_4^+$ pour l'oxydation de NH_4^+ est voisine de 100 μM dans l'Escaut (Brion 1998). Pour l'oxygène dissous, $k_m\text{O}_2 = 15 \mu\text{M}$. La nitrification est donc manifestement limitée par la disponibilité de NH_4^+ à la fin de juillet.

3.4 La production phytoplanctonique

3.4.1 Chlorophylle *a* et phaeopigments

3.4.1.a La chlorophylle *a*

La concentration en chlorophylle *a* reflète l'importance de la biomasse phytoplanctonique présente dans la colonne d'eau. Dans l'estuaire de l'Escaut, la biomasse algale atteint durant les mois d'été des valeurs importantes, typiques des milieux eutrophes (planche A e). L'évolution longitudinale de la chlorophylle *a* dans l'estuaire amont met en évidence les concentrations les plus élevées que nous ayons observées le long de l'estuaire. Durant l'été, le développement algal prend place au sein même de l'estuaire entre Dendermonde (km 120) et Temse (km 95). Cette floraison est essentiellement due à des espèces autochtones de diatomées qui sont adaptées aux conditions de pénétration lumineuse propres à l'estuaire (Muylaert, Sabbe et al. 2000). A l'inverse de ce qui se produit en amont, la région oligohaline et l'estuaire aval sont le siège d'une diminution spectaculaire de la biomasse phytoplanctonique entre les salinités 2 et 5 (planche E e). Ce profil longitudinal de la chlorophylle *a* met en évidence un phénomène qui semble être paradoxal: le maximum de biomasse algale est en effet en coïncidence avec le maximum

de turbidité et avec le minimum de la concentration en oxygène dissous (planche C b et h). A première vue, on s'attendrait à ce que la biomasse des organismes phototrophes soit faible dans la région du maximum de turbidité. De plus, puisqu'il s'avère qu'elle y est élevée, pourquoi y observe-t-on le minimum d'oxygène dissous ?

Premièrement, cette partie de l'estuaire concentre à la fois une activité nitrifiante élevée, ainsi qu'une très importante activité hétérotrophe (cf. planche H f), qui expliquent le déficit en oxygène dissous observé. Deuxièmement, lorsque la croissance phytoplanctonique est empêchée, la production d'oxygène photosynthétique n'a pas lieu, quelle que soit la biomasse en présence. Or, en raison de la turbidité élevée, nous sommes en droit de penser que le phytoplancton ne croît pas entre les salinités 1 et 5. Ce point est analysé en détail au chapitre 7. Pour expliquer le pic de chlorophylle *a* dans la région oligohaline, nous faisons donc l'hypothèse que la biomasse observée à cet endroit s'est formée ailleurs. Après sa formation, cette biomasse algale est transportée par advection et distribuée dans l'estuaire (Cole, Caraco et al. 1992).

Il se pourrait que la flocculation des matières en suspension joue aussi un rôle sur l'allure du profil longitudinal de chlorophylle *a* dans la région oligohaline. Lorsque les particules en suspension s'agrègent en flocculant, on peut imaginer qu'une partie du phytoplancton reste prisonnière des flocs. Certaines espèces sont aussi capables de se lier aux particules en suspension (Yallop et al. 1994). Après leur advection depuis les régions productives de l'amont, les organismes phytoplanctoniques subiraient ainsi les effets du « piégeage hydrodynamique » en restant essentiellement confinés près du maximum de turbidité, dans la région oligohaline. Sur le profil longitudinal, un tel mécanisme aurait pour effet d'accentuer la diminution de la chlorophylle *a* observée dans la zone oligohaline. Des expériences récentes ont toutefois montré que le mécanisme de piégeage reste très limité (Muylaert comm. pers.), ce qui affaiblit cette hypothèse. Il faut en conclure que la décroissance de la population phytoplanctonique aux faibles salinités est due à la diminution du rapport production/mortalité au cours de son transport vers l'aval. Les raisons de cette diminution peuvent être multiples (insuffisance de lumière et sénescence, stress salin, grazing,... cf. chapitres 6 et 7).

L'évolution temporelle de la chlorophylle *a* (planche F h) montre une présence phytoplanctonique ininterrompue depuis le printemps jusqu'à l'automne. La valeur maximum de chlorophylle *a* est atteinte durant l'été au mois de juillet ; la diminution, qui prend place fin septembre, peut être mise en relation avec la baisse de la température et celle de l'irradiance solaire incidente. On notera toutefois que la courbe annuelle de la

concentration en chlorophylle *a* est plus en phase avec celle de la température qu'avec celle de l'irradiance solaire (voir figure 3.6).

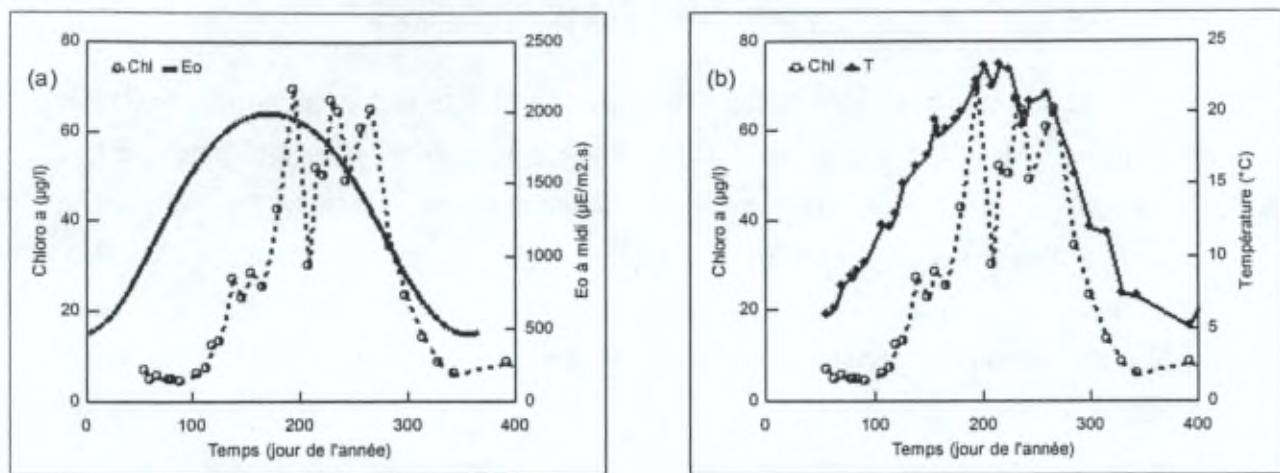


Figure 3.6 : Comparaisons entre les évolutions annuelles de la concentration en chlorophylle *a* (Chl) et
(a) de l'irradiance solaire incidente à midi (Eo, théorique), (b) de la température (T, observée). Données de Sint-Anna (Antwerpen) 1999-2000.

Nous tenterons de préciser plus loin le rôle de la température sur la production phytoplanctonique. Durant la période estivale, trois maxima de chlorophylle *a* sont enregistrés. On constate que ces pics sont en exacte coïncidence avec trois minima de salinité relevés entre juin et fin août, qui correspondent eux-mêmes à trois augmentations du débit d'amont (figure 3.7).

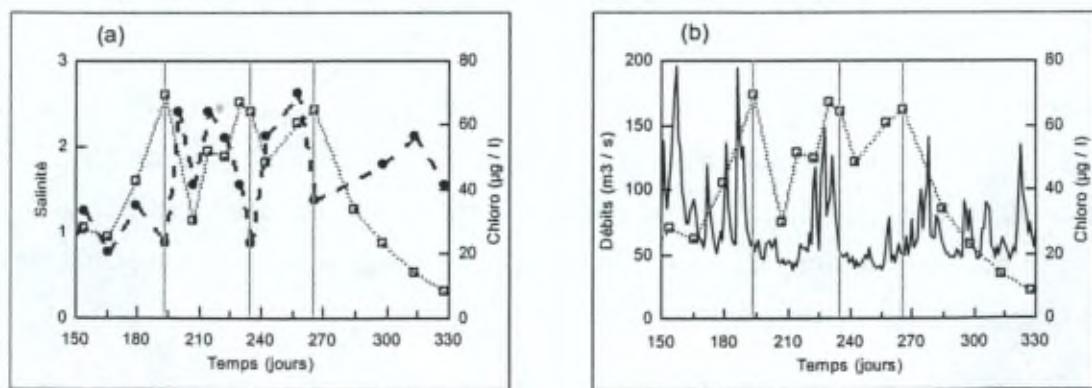


Figure 3.7: Synchronisme entre les maxima de chlorophylle *a* (carrés blancs) et (a) les minima de salinité, ou (b) les augmentations du débit d'amont.

Une élévation du débit d'amont, en particulier durant l'été, a pour effet de chasser les masses d'eau vers l'aval. Nos résultats confirment que de tels événements d'ordre hydrodynamique peuvent avoir une grande influence sur le transport et la distribution des micro-organismes dans l'estuaire (Muylaert et al. 2001) et compliquent fortement l'interprétation des séries temporelles et des profils longitudinaux.

La planche F h met en évidence un point qui semble être une anomalie dans l'évolution globale annuelle de la chlorophylle *a*. Cette diminution de chlorophylle *a* qui prend place pendant la floraison algale apparaît simultanément avec la diminution de la production au noir et avec le minimum de la vitesse de consommation de l'O₂ dissous (planche H d et f). C'est pourquoi nous ne pensons pas à un phénomène affectant exclusivement la biomasse phytoplanctonique. Mais il s'agirait plutôt d'un événement affectant les activités de différents micro-organismes; à tout le moins, le phytoplancton et les bactéries nitrifiantes et hétérotrophes. Nous n'avons pas d'explication claire à ce sujet. Il n'est pas exclu que cet effet soit lié au rejet industriel d'un agent chimique biocide dans l'environnement, bien que les quantités à mettre en jeu pour obtenir un tel effet soient très importantes. D'un autre côté, ces diminutions simultanées de biomasse phytoplanctonique et d'activités bactériennes pourraient aussi être liées au grazing. Durant cette période, les maxima estivaux de biomasse zooplanctonique sont observés à cet endroit. En particulier, Muylaert, Van Mieghem et al. (2000) y observent le protozoaire *Asterocaelum* qui se nourrit principalement de diatomées centriques (*Cyclotella* spp.), le phytoplancton dominant dans cette région de l'estuaire durant l'été. De même, ils observent à ce moment le maximum estival de ciliés et de nanoflagellés (HNAN) bactérvires. Certains de ces bactérvires pourraient se nourrir des bactéries nitrifiantes et hétérotrophes au point de réduire considérablement leurs activités respectives (planche H d). Il est cependant peu probable qu'un effet de grazing aussi important ne se manifeste que pendant une période aussi courte.

3.4.1.b Les phaeopigments

Puisque les phaeopigments sont des produits de dégradation de la chlorophylle *a* qui apparaissent rapidement après la mort de la cellule, nous considérons le rapport entre la concentration des phaeopigments et celle de la chlorophylle *a* comme un indice de la mortalité du phytoplancton. En particulier, ce rapport peut devenir élevé lorsque cette mortalité est liée au grazing du phytoplancton par le zooplancton (Litaker et al. 1988). Sur l'évolution saisonnière de ce rapport (planche H e), on observe en hiver environ 2 à 3 fois plus de phaeopigments que de chlorophylle *a*. La période de floraison algale est

naturellement caractérisée par une décroissance continue de ce rapport avec des valeurs minima à la fin de l'été. Comme pour les autres paramètres, la régularité de cette décroissance est sans doute perturbée par les variations du débit d'amont.

L'évolution longitudinale des phaeopigments dans l'estuaire amont en juillet 2000 présente sa valeur la plus élevée à l'extrême limite amont de l'estuaire (planche A e). Cela peut être lié à la mortalité des espèces fluviale qui ne peuvent survivre dans les conditions de turbidité élevée de l'estuaire. Les évolutions longitudinales dans l'estuaire aval sont présentées à la planche E f. La concentration élevée des phaeopigments à la limite de l'intrusion saline confirme une mortalité importante du phytoplancton aux faibles salinités. La décroissance ultérieure des phaeopigments est attribuable à la dégradation par l'activité bactérienne. Il subsiste néanmoins une fraction réfractaire qui est progressivement diluée dans l'estuaire aval.

3.4.2 Variabilité des paramètres photosynthétiques

Comme on l'a déjà présenté au chapitre 2, la réponse de la photosynthèse au changement d'irradiance est communément modélisée comme une fonction de saturation que l'on ajuste avec deux paramètres photosynthétiques¹ (Jassby et Platt 1976), voire trois lorsque le phytoplancton est sujet à la photoinhibition (Platt 1980). Les paramètres α^B et P_{max}^B , à l'origine empiriques, ont été reliés de plus en plus étroitement aux caractéristiques physiologiques du phytoplancton: par exemple, nombre des photosystèmes et efficacité de la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques pour α^B (Suggett et al. 2001) et P_{max}^B dans certaines espèces (Geider et MacIntyre 2002); efficacité du cycle de Calvin pour P_{max}^B (Orellana et Perry 1992; Geider et MacIntyre 2002). La valeur des paramètres PE pour une population déterminée est vue comme le résultat d'une adaptation spécifique du phytoplancton aux conditions environnementales (MacIntyre et al. 2002); la variation de cette valeur peut être reliée aux changements d'irradiance (Geider 1993; Behrenfeld et al. 2004), de température (MacIntyre et Cullen 1996; Geider et al. 1998; Geider et MacIntyre 2002), ainsi qu'à la disponibilité des nutriments (Geider et al. 1998).

En se focalisant sur la dépendance à la lumière, on peut expliquer les variations à court terme de α^B et P_{max}^B par l'interaction de deux mécanismes: la photoacclimatation et la photoinhibition (Geider et al. 1996, Zonneveld 1998, Han 2002), ou par d'autres mécanismes plus complexes dans le cas d'une variation simultanée où le rapport P_{max}^B/α^B

(i.e. I_k) reste constant (Benrenfeld et al. 2004). La photoacclimatation et la photoinhibition ont pour effet d'altérer la réponse photosynthèse-irradiance en agissant sur les systèmes photosynthétiques, dans des délais qui s'échelonnent de la minute à la journée. Dans un estuaire turbide (San Antonio Bay, Texas), MacIntyre et Cullen (1996) observent, par exemple, une dépendance rapide de P^B_{max} envers la turbidité. Les auteurs proposent que la photoacclimatation explique l'écart entre certaines valeurs expérimentales de P^B_{max} et des valeurs théoriques, calculées à partir d'une fonction de la température.

A plus long terme, la variabilité saisonnière des paramètres photosynthétiques dans un écosystème donné est liée aux variations de température ainsi qu'à la succession des assemblages d'espèces phytoplanctoniques, chaque espèce présentant des caractéristiques différentes (Pennock et Sharp 1986). Dans ce chapitre, nous nous bornons à l'analyse des tendances saisonnières de l'évolution des paramètres PE dans l'estuaire de l'Escaut.

De manière générale, l'efficience photosynthétique α^B n'est jamais bien corrélée avec aucune autre grandeur dans l'estuaire de l'Escaut. Cela vaut pour le profil temporel (planche H c), ainsi que pour les profils longitudinaux (planches A a et E a). Nous relions faute de mieux les variations longitudinales et temporelles de α^B dans l'estuaire de l'Escaut à la succession des espèces phytoplanctoniques. Celles-ci se succèdent au cours des saisons avec une nette dominance des diatomées centriques (*Cyclotella* spp.) dans l'estuaire amont et dans la zone oligohaline à partir de juin jusque fin août (Muylaert et Sabbe 1996), le phytoplancton présent aux hautes salinités étant essentiellement du phytoplancton d'origine marine (Soetaert et al. 1994).

L'évolution longitudinale de la capacité photosynthétique maximum (P^B_{max} ; planche E b) dans l'estuaire de l'Escaut (estuaire aval²) présente un profil difficilement interprétable. On peut noter qu'aux salinités élevées la valeur de P^B_{max} reste à peu près la même en juillet et en novembre, tandis qu'aux faibles salinités elle augmente de l'hiver à l'été. Sur le profil longitudinal, la dépendance de P^B_{max} envers la température (planches E b et C a) qu'on peut suspecter dans la zone oligohaline, ne semble pas exister aux hautes salinités. Vis-à-vis de la turbidité, P^B_{max} n'est pas du tout corrélé avec le k_d qui détermine la pénétration lumineuse dans l'eau (planche C d). Nous attribuons donc la majeure partie

¹ Aussi appelés paramètres PE, puisqu'ils sont déterminés à l'aide d'une courbe dite PE (photosynthèse-irradiance).

² Veuillez noter que nous ne montrons pas de résultat de P^B_{max} dans l'estuaire amont. La capacité photosynthétique maximum n'a en effet pas pu être observée sur les courbes PE à cause de la limitation de l'intensité lumineuse dans l'incubateur.

des variations longitudinales de P^B_{\max} à la succession des espèces phytoplanctoniques dans l'estuaire, avec aux faibles salinités une dépendance envers la température. Cette dépendance est évidente sur le profil temporel à Sint-Anna (planche H a), où P^B_{\max} affiche une variation saisonnière importante avec un net maximum durant l'été. La variation de P^B_{\max} est en corrélation avec celle de la température (planche F b ; figure 3.8).

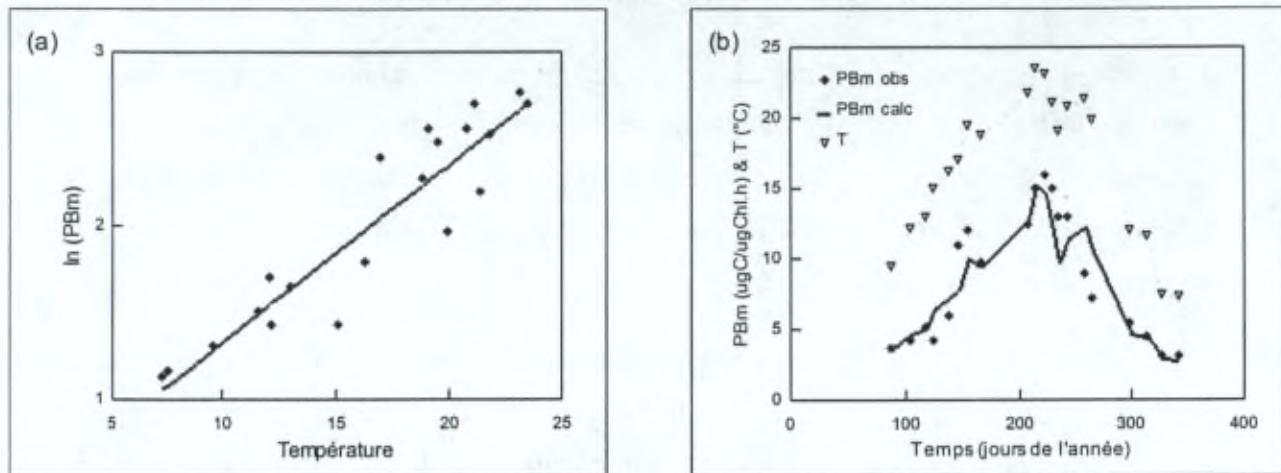


Figure 3.8 : (a) Corrélation entre P^B_{\max} et la température des eaux estuariennes (T). Fonction logarithmique : $\ln(P^B_{\max}) = 0.102 * T + 0.330$; $R^2 = 0.866$; $n = 20$. Le graphe reprend les résultats de la campagne en un point fixe à Sint-Anna (1999-2000). (b) Profil temporel de P^B_{\max} et de la température à Sint-Anna en 1999-2000 (prélèvements à l'étalement de marée basse). "PBm obs" et "PBm calc" sont respectivement les P^B_{\max} observés, et les P^B_{\max} calculés à partir de la fonction logarithmique.

La relation logarithmique de la figure 3.8 (a) montre que les variations de température expliquent pour une bonne part les variations saisonnières de P^B_{\max} , à tout le moins dans la région oligohaline de l'estuaire. A partir de cette corrélation, l'évolution temporelle de P^B_{\max} a été simulée dans l'estuaire de l'Escaut (à Sint-Anna) sur la base des données de température (figure 3.8 b). La corrélation avec la température est peu étonnante dans la mesure où la valeur de P^B_{\max} est conditionnée par un ensemble de processus enzymatiques au sein de la cellule (cycle de Calvin et chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques). Dans cette optique, une relation de type Arrhénius a été utilisée dans d'autres estuaires pour prédire à partir de la température la variation de P^B_{\max} (voir par exemple, Harding et al. 1986; MacIntyre et Cullen 1996).

3.4.3 Production primaire brute intégrée et croissance du phytoplancton

La croissance phytoplanctonique correspond à l'augmentation de la biomasse algale, par le biais d'une augmentation de la taille e^t/ou du nombre de cellules de phytoplancton. Lorsqu'on ne tient pas compte des effets de transport, la biomasse algale peut être calculée en tenant compte de la différence entre la production primaire nette et la mortalité du phytoplancton. La production primaire nette du phytoplancton (NPP) constitue donc la limite supérieure de la vitesse de croissance phytoplanctonique. Classiquement, on définit la NPP comme la différence entre la production brute et la respiration du phytoplancton (voir aussi le chapitre 4 pour des définitions plus précises de ces notions). Par conséquent, la production primaire brute du phytoplancton (GPP), que nous mesurons comme la vitesse d'incorporation de ^{14}C , est toujours significativement supérieure à la production algale nette. Dans ce chapitre, nous nous limitons à une évaluation de la production phytoplanctonique brute dans l'Escaut à partir des paramètres photosynthétiques mesurés et présentés plus haut. Le calcul de la production nette du phytoplancton nécessite en effet de connaître la respiration algale (voir chapitres 4, 5 et 7); et le calcul de la variation de biomasse phytoplanctonique dans l'estuaire, à partir de la GPP et de la NPP, requiert un minimum de modélisation hydrodynamique (voir chapitres 7 et 8). Notre objectif à ce stade se borne à identifier les facteurs – parmi ceux que nous avons mesurés – qui expliquent le mieux la variabilité de la GPP. Nous espérons ainsi identifier les variables environnementales qui influencent la production phytoplanctonique dans l'estuaire de l'Escaut.

Dans une colonne d'eau homogène, l'intensité de la lumière décroît exponentiellement dans le sens vertical en suivant une loi d'extinction du type Beer-Lambert. On associe généralement à cette décroissance un coefficient empirique d'atténuation verticale de la lumière (k_d) qui dépend fortement, dans l'Escaut, de la concentration des matières en suspension (voir chapitre 7). A cause de la décroissance de l'intensité lumineuse, la GPP suit une distribution non-linéaire sur la verticale de la colonne d'eau. Pour faciliter l'interprétation des résultats, il est donc commode de considérer la GPP totale de la colonne d'eau, c'est-à-dire la GPP intégrée sur la profondeur (ou GPPz). Si l'on considère que la colonne d'eau est totalement homogène sur la verticale, pour tous les paramètres (excepté pour la lumière), on peut calculer cette intégrale en combinant le modèle de Platt (voir chapitre 2) et la distribution de l'intensité lumineuse sur la profondeur (via le k_d). La variation temporelle de deux facteurs physiques (l'irradiance solaire incidente et le coefficient k_d) entraîne une évolution continue de la GPPz au cours de la journée. Pour en

tenir compte dans le calcul de la GPPz intégrée sur 24 heures (ou GPPzt), on a utilisé une représentation sinusoïdale de ces facteurs physiques en fonction du temps.

A l'échelle saisonnière, le calcul de la GPPzt (planche H b) présuppose que les grandeurs d'influence sont la concentration en chlorophylle *a*, les paramètres P^B_{\max} et α^B , et l'irradiance totale journalière (qui peut être principalement décomposée en deux facteurs: l'irradiance solaire incidente à midi (Eo) et la durée d'ensoleillement). On peut se demander quels sont, dans le modèle de Platt, les paramètres qui influencent le plus la GPPzt dans le cas de l'estuaire de l'Escaut. Ou autrement dit, quelle est la combinaison de paramètres qui explique le mieux les variations saisonnières de la GPPzt ? Par exemple, en estuaire turbide, le modèle empirique BZE proposé par Cole et Cloern (1984) explique 80-90 % des variations de la GPPzt par les variations conjuguées de trois paramètres : la biomasse algale (B), la profondeur euphotique (Z), et l'irradiance solaire à midi (Eo). Bien que le modèle explicatif BZE ait été adopté par de nombreux auteurs au cours des années précédentes (Keller 1988; Pennock et Sharp 1986; Harding et al. 1986; MacIntyre et Cullen 1996; Cole 1989; Boyer et al. 1993), on peut lui reprocher de négliger toute relation avec les paramètres physiologiques.

En comparant les évolutions saisonnières de la GPPzt (planche H b) et de la chlorophylle *a* (planche F h), on peut noter une nette correspondance entre les maxima de chlorophylle *a* et les pics de GPPzt, quoique ces derniers soient de plus en plus atténus au cours de l'évolution saisonnière. Comme la GPPzt est linéairement dépendante de la concentration en chlorophylle *a*, il n'est pas étonnant d'observer une hausse de GPPzt chaque fois que survient un maximum de chlorophylle *a*. Mais la décroissance de la GPPzt, observée après le net maximum saisonnier de juillet (~ jour 190), est-elle liée à la lumière, aux paramètres α^B et P^B_{\max} , ou à la température via P^B_{\max} ? Les valeurs de ces paramètres sont rassemblés dans la table 3.2 ci-dessous.

	Jour	Chloro	Eo midi	P^B_{\max}	α^B	T	GPPzt
Pic 1	193	69.4	1970.0	14.0	$2.7 \cdot 10^{-2}$	22.2	284.3
Pic 2	229	67.1	1753.9	15.0	$1.9 \cdot 10^{-2}$	21.1	178.7
Pic 3	265	65.0	1329.3	7.2	$2.3 \cdot 10^{-2}$	19.9	100.8

Table 3.2: Valeurs des paramètres pouvant influencer la GPPzt pour les trois jours correspondant aux pics de GPPzt à la planche H b.

Ces résultats montrent que ni la chlorophylle a , ni α^B ne peuvent constituer des causes convaincantes pour expliquer la décroissance de la GPPzt au cours de cette période (mi-juillet à fin septembre). En revanche, l'irradiance solaire à midi décroît significativement. La durée du jour (non montrée) diminue également, ce qui constitue une cause au moins aussi importante pour la décroissance de la GPPzt calculée. Quant au paramètre P^B_{\max} , il diminue indépendamment de la température entre les jours 240 et 270 (planchette H a), reflétant peut-être la succession saisonnière des espèces. Cette diminution, également visible à la table 3.2 (jour 265), joue certainement un rôle dans la décroissance de la GPPzt au mois de septembre.

Pour analyser l'influence relative des paramètres contenus dans la relation de Platt sur la variabilité saisonnière de la GPPzt, nous procédons à une étude de corrélation. On constate sans surprise à la figure 3.9 que les variations de la biomasse (B, c-à-d chlorophylle a dans notre cas) expliquent à elles seules une grande part de la variabilité de GPPzt (le coefficient de détermination r^2 vaut 0.76).

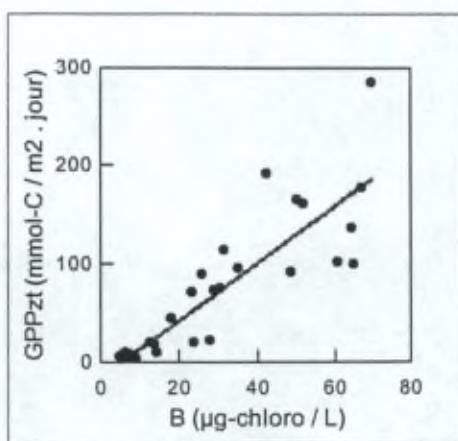


Figure 3.9 : Corrélation ($r^2 = 0.76$) entre les valeurs saisonnières de la GPPzt et de la chlorophylle *a* dans l'estuaire de l'Escaut (Sint-Anna).

Pour examiner plus avant la variabilité de GPPzt, nous simplifions l'exponentielle de Platt en ne considérant que le premier terme de son développement en série.

$$GPP = B \cdot \alpha^B \cdot E \quad \text{éq. 3.4}$$

Cette approximation est d'ailleurs considérée comme valable dans le cas où l'irradiance (E) est faible. On peut également considérer le cas d'une irradiance élevée, où l'équation de Platt tend vers :

$$GPP = B \cdot P_{\max}^B \quad \text{éq. 3.5}$$

En divisant les équations 3.4 et 3.5 par B, la variabilité associée à la chlorophylle *a* est éliminée. En faisant l'approximation que la variabilité de E est essentiellement comprise dans celle de E_0 (irradiance solaire à midi), nous considérons deux paramètres ($\alpha^B \cdot E_0$ et P_{max}^B) pouvant expliquer les variations saisonnières de GPPzt/B. Les graphes GPPzt/B vs P_{max}^B (figure 3.10 a), et GPPzt/B vs $\alpha^B \cdot E_0$ (figure 3.10 b) montrent que le paramètre composite $\alpha^B \cdot E_0$ est plus fortement corrélé avec GPPzt/B, que le paramètre P_{max}^B . En les combinant linéairement, comme dans l'équation 3.6, la variabilité de l'essentiel des paramètres de l'équation de Platt est prise en compte.

$$GPP_{zt/B} \sim \alpha^B \cdot E_0 + K \cdot P_{\max}^B \quad \text{éq. 3.6}$$

Le coefficient K est un coefficient d'ajustement (~ 2.2). Le coefficient de détermination de la corrélation (figure 3.10 c) indique le pourcentage de variabilité de la GPPzt/B qui est due à la variabilité de la combinaison linéaire ($r^2 = 0.95$).

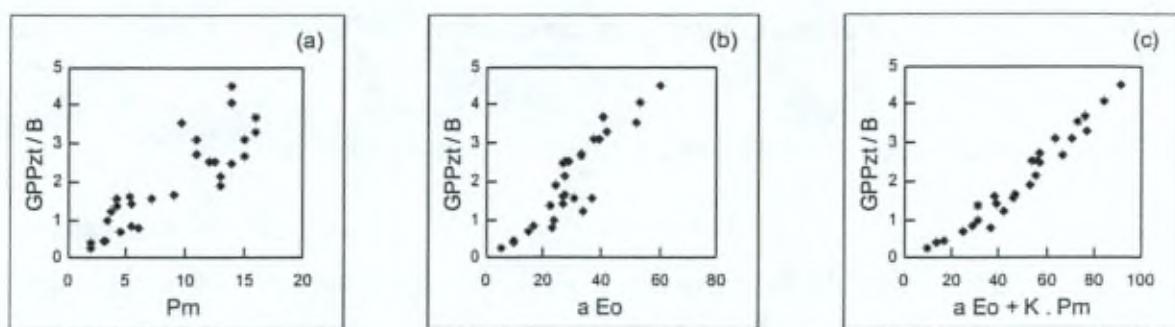


Figure 3.10 : Corrélations entre GPPzt/B et (a) P_{max}^B ($r^2 = 0.76$), (b) $\alpha^B \cdot Eo$ ($r^2 = 0.83$), (c) la combinaison linéaire $\alpha^B \cdot Eo + K \cdot P_{\text{max}}^B$, où K vaut 2.2 ($r^2 = 0.95$).

Cette analyse (basée sur une variation théorique et simple du k_d dans le calcul de GPPzt) semble indiquer que la production phytoplanctonique de la colonne d'eau sur la journée se fait dans des conditions de lumière limitante, aussi bien que dans des conditions de lumière saturante. Nous avons vu que l'eau de l'estuaire présente une turbidité élevée: dès les 10 à 100 premiers centimètres sous la surface, et jusqu'au fond, le phytoplancton est généralement limité par la lumière dans l'Escaut ($k_d \approx 2$ à 20 m^{-1} et $z_{eu} \approx 0.2$ à 2 m). Toutefois, l'importance relative de la production qui se fait sous lumière saturante ne doit pas être négligée, même si celle-ci ne se déroule que dans les premiers centimètres sous la surface et qu'elle est contrainte à ne pas dépasser la valeur de P_{max}^B . La complexité des facteurs mis en jeu plaide pour une approche complète faisant intervenir l'ensemble des paramètres, aussi bien physiques que photosynthétiques, dans le calcul de la production phytoplanctonique intégrée dans l'espace et dans le temps.

3.4.4 Production phytoplanctonique dissoute

Les évaluations de la production de matière organique dissoute par le phytoplancton dans l'Escaut ne nous ont pas donné de résultat observable. La concentration de matière organique excrétée restait sous le seuil de sensibilité de la méthode, pour deux raisons selon nous : 1°) la biomasse bactérienne est si importante dans les eaux estuariennes que toute la matière organique excrétée par le phytoplancton est immédiatement respirée et retransformée en carbonates dissous au cours de l'incubation. Par conséquent, après l'étape expérimentale d'acidification et de bullage, il ne reste aucune trace du ^{14}C excrété sous forme organique ; 2°) l'excrétion de matière dissoute par le phytoplancton est faible,

voire négligeable, dans l'estuaire de l'Escaut. La problématique de l'excrétion phytoplanctonique est évoquée par ailleurs aux chapitres 4 et 7.

3.5 L'oxygène dissous et sa vitesse de consommation

La concentration en oxygène dissous dans le milieu naturel résulte de la combinaison complexe d'un ensemble de phénomènes physiques et biologiques. Dans l'estuaire de l'Escaut, l'oxygène dissous est produit par la photosynthèse et est consommé au cours de réactions d'oxydations biologiques. De plus, le mécanisme de réaération est responsable d'un échange entre l'oxygène dissous dans la colonne d'eau et l'oxygène atmosphérique. La réaération tendra toujours à ramener la concentration en O₂ dissous vers la concentration de saturation, qui dépend de la température, de la salinité et de la pression. Les écarts à la saturation sont donc liés à l'activité des organismes vivants.

En hiver comme en été, la concentration en O₂ dissous reste largement sous-saturée à l'amont et dans la région oligohaline (planches A g, C h, F d et f). Cela résulte de la nette dominance des activités biologiques consommatrices d'oxygène sur la production d'oxygène photosynthétique et sur la réaération. Les deux principaux consommateurs d'O₂ dissous dans un estuaire eutrophe comme celui de l'Escaut sont les bactéries hétérotrophes et les bactéries nitrifiantes (voir aussi Brion et al. 2000; Middelburg et Nieuwenhuize 2000). A partir de la salinité 2, les eaux de l'Escaut voient leur concentration en O₂ dissous réaugmenter au contact des eaux marines. Dans l'estuaire aval, la concentration en O₂ dissous peut atteindre la saturation en hiver, à partir de la salinité 10.

On peut noter que, le long de l'estuaire aval, l'activité des organismes nitrifiants (déduite de l'incorporation de ¹⁴C au noir) diminue considérablement par rapport à la situation en amont (planche E d). Néanmoins, la vitesse de consommation totale de l'O₂ dissous diminue moins rapidement (même graphe). Cela laisse penser que l'activité hétérotrophe se maintient au-delà de la zone oligohaline. Si l'on considère que l'essentiel de la charge de matière organique en provenance des eaux usées domestiques est respirée dans les rivières et en amont de l'estuaire, on peut en déduire que la matière organique issue de la photosynthèse constitue une part significative du substrat des bactéries hétérotrophes. C'est d'ailleurs le cas dans d'autres écosystèmes où l'activité des bactéries hétérotrophes est fortement dépendante des périodes de floraisons algales (Cole et al. 1982; Brock et Clyne 1984; Malinsky-Rushansky et Legrand 1996). La saison estivale correspond par ailleurs aux valeurs élevées de lumière et de température, de telle sorte que les maxima

d'activité sont en phase pour les populations phytoplanctoniques et hétérotrophes (planches H f et F h). Bien entendu, nous restons prudent dans notre interprétation et nous gardons à l'esprit que la vitesse de consommation de l'O₂ dissous est également due aux bactéries nitrifiantes.

3.6 Conclusions

Au terme de cette première analyse des profils temporels et longitudinaux, nous pouvons déjà classer les paramètres qui ont fait l'objet de notre étude selon trois catégories : ceux qui n'exercent pas de contrôle significatif sur la production phytoplanctonique, ceux qui jouent peut-être un rôle – devant être précisé –, et ceux qui influencent sûrement la production du phytoplancton.

De façon certaine, les concentrations en nutriments azotés et phosphorés sont suffisamment élevées pour ne pas limiter la production phytoplanctonique le long de l'estuaire. La silice en revanche peut, certaines années exceptionnelles, limiter la croissance des diatomées durant la période estivale. D'autre part, on peut affirmer de façon tout aussi certaine que l'énergie lumineuse disponible dans l'eau joue un rôle très important sur le contrôle de la GPP dans l'estuaire de l'Escaut. La lumière disponible étant elle-même dépendante d'une série de facteurs, cela implique que ces facteurs agissent indirectement sur la production phytoplanctonique : nous parlons de l'énergie solaire incidente journalière, facilement prévisible si l'on fait abstraction de la nébulosité, et de la turbidité qui dépend essentiellement des matières en suspension et, par conséquent, du régime hydrodynamique de l'estuaire. Par ailleurs, il est certain que la GPP est influencée par la température, au moins via P^B_{max}, et par le débit d'amont qui contrôle le temps de séjour des biomasses phytoplanctoniques dans l'estuaire. En revanche, il reste difficile de déterminer si les facteurs suivants ont une influence significative sur la GPP, en particulier dans la région oligohaline : le stress salin, le grazing par le zooplancton (via une limitation de la biomasse algale), et le piégeage des cellules algales par la flocculation des matières en suspension (idem). La question du stress salin ainsi que celle du grazing sont abordées au chapitre 6.

A ce stade, on ne sait pas ce qui contrôle la production phytoplanctonique dans l'estuaire de l'Escaut. Cependant, la croissance phytoplanctonique nécessite essentiellement de l'énergie lumineuse et des matières nutritives, le reste pouvant être considéré comme accessoire en première approximation. Les résultats présentés dans ce chapitre nous font penser que la turbidité, plus que tout autre facteur, demeure le seul candidat sérieux pour

expliquer la limitation massive de la production phytoplanctonique dans cet estuaire. Mais ce constat pose problème, car nous restons avec une question déjà posée : comment expliquer que les maxima observés pour la chlorophylle *a* se produisent aux endroits où la turbidité est également maximum (estuaire amont et salinités < 2) ? Cette question est pertinente car, abstraction faite de tous les facteurs limitants, comment imaginer qu'un système pauvre en lumière puisse soutenir une telle floraison algale ; à moins de reconsiderer dans le détail les interactions entre production phytoplanctonique et disponibilité lumineuse. Par ailleurs, notre question s'étend plus loin : pourquoi observe-t-on une diminution spectaculaire de la chlorophylle *a* précisément là où la turbidité diminue également (salinités 2 à 5) ? C'est précisément ce second aspect du questionnement général qui guidera notre recherche des facteurs limitants pour la production phytoplanctonique dans l'estuaire de l'Escaut.

Dans la suite de ce travail, nous explorerons plus en détail les mécanismes de la production phytoplanctonique à différentes échelles de temps et d'espace, depuis l'incubation au laboratoire jusqu'aux évaluations à l'échelle de l'estuaire. Comme la turbidité est un facteur central, nous focaliserons également notre attention sur les mécanismes qui président à la distribution de la lumière dans la colonne d'eau. Le lien entre disponibilité lumineuse et biomasse phytoplanctonique n'est pas évident à établir, surtout dans un environnement aussi dynamique que l'estuaire de l'Escaut. Il passe par le calcul de la production primaire brute du phytoplancton, sur la base de l'énergie lumineuse disponible, puis par le calcul de la production nette du phytoplancton, et enfin par l'évaluation de la biomasse algale qui en résulte. Nécessairement, ces calculs font appel à la modélisation pour tenir compte d'une série de mécanismes biologiques (photosynthèse, respiration, ...) et physiques (lumière disponible, profondeur de mélange, ...) qui déterminent la croissance du phytoplancton. Dans un premier temps, il s'agit pour nous de recenser ces mécanismes, pour ensuite les simuler tels qu'ils se produisent spécifiquement dans l'estuaire de l'Escaut.

Evolutions longitudinales: estuaire amont

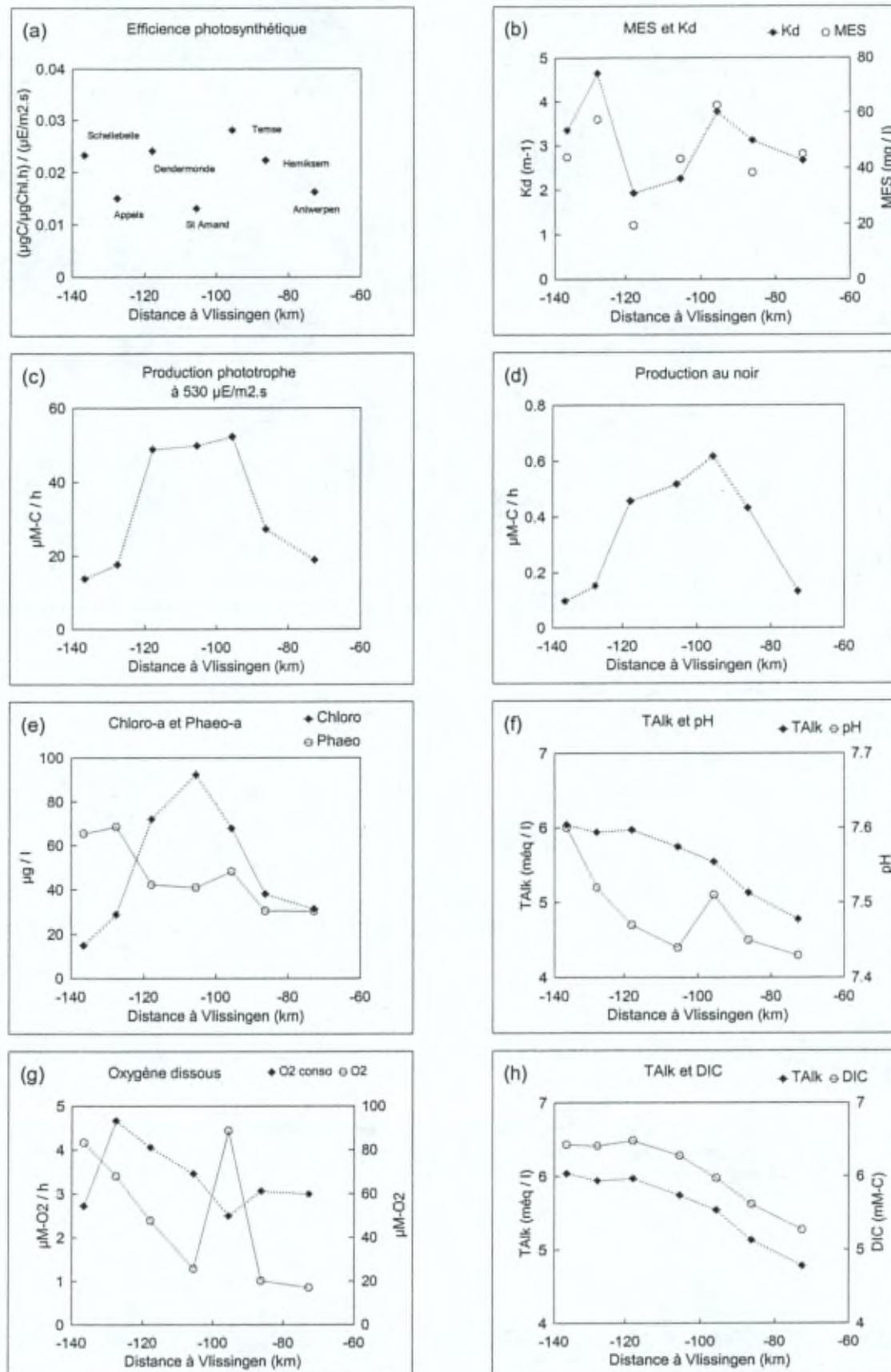


Planche A : Evolutions longitudinales des paramètres bio-physico-chimiques mesurés en amont d'Anvers en juillet 2001. Chaque prélèvement fut effectué à l'étalement de marée basse.
La figure (g) présente la vitesse de consommation et la concentration de l'oxygène dissous.
Vlissingen correspond à l'embouchure de l'Escaut.

Evolutions longitudinales: estuaire amont

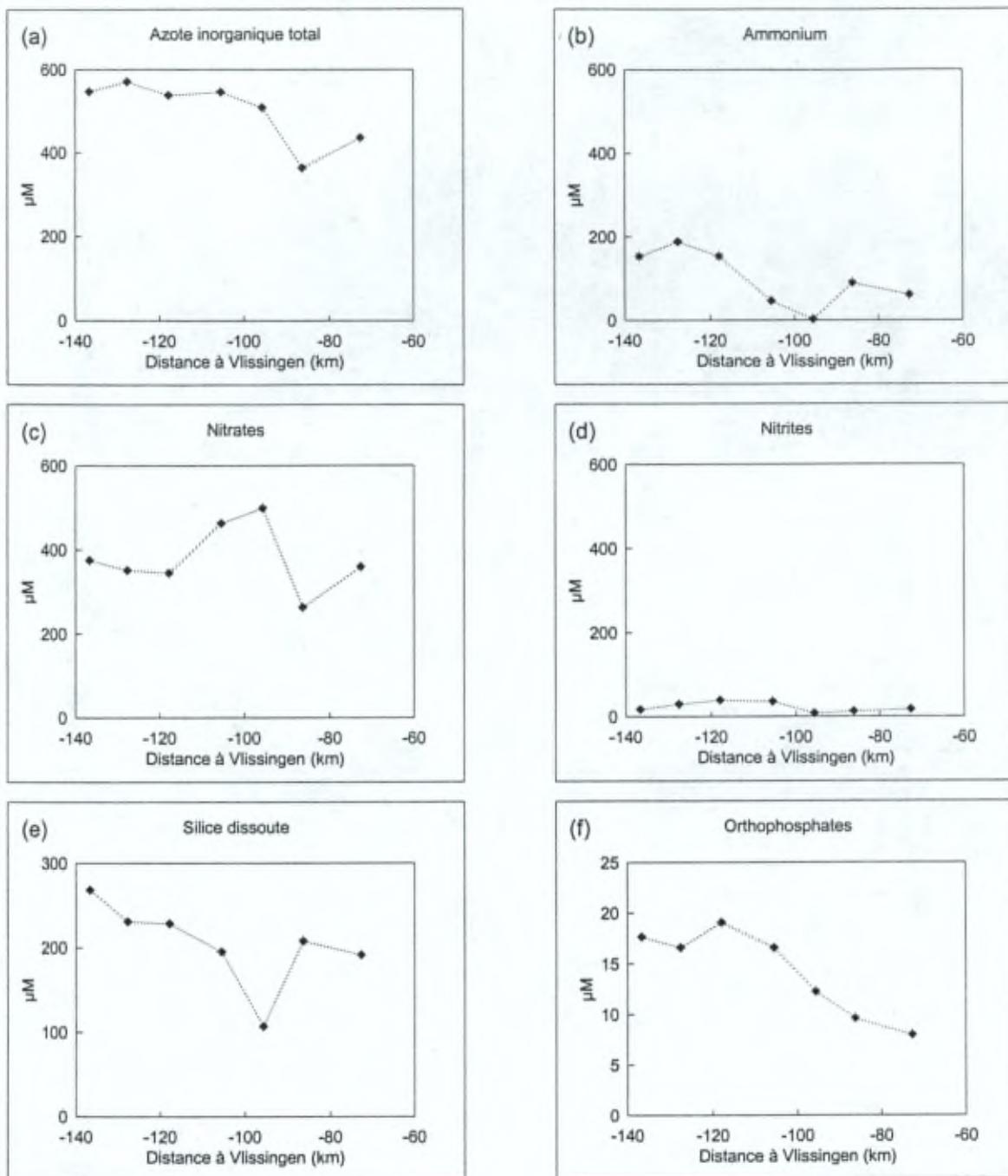


Planche B :

Evolutions longitudinales des nutriments dans l'estuaire amont de l'Escaut en juillet 2001.

Chaque prélèvement fut effectué à l'étalement de marée basse.

Vlissingen correspond à l'embouchure de l'Escaut.

Evolutions longitudinales: estuaire aval

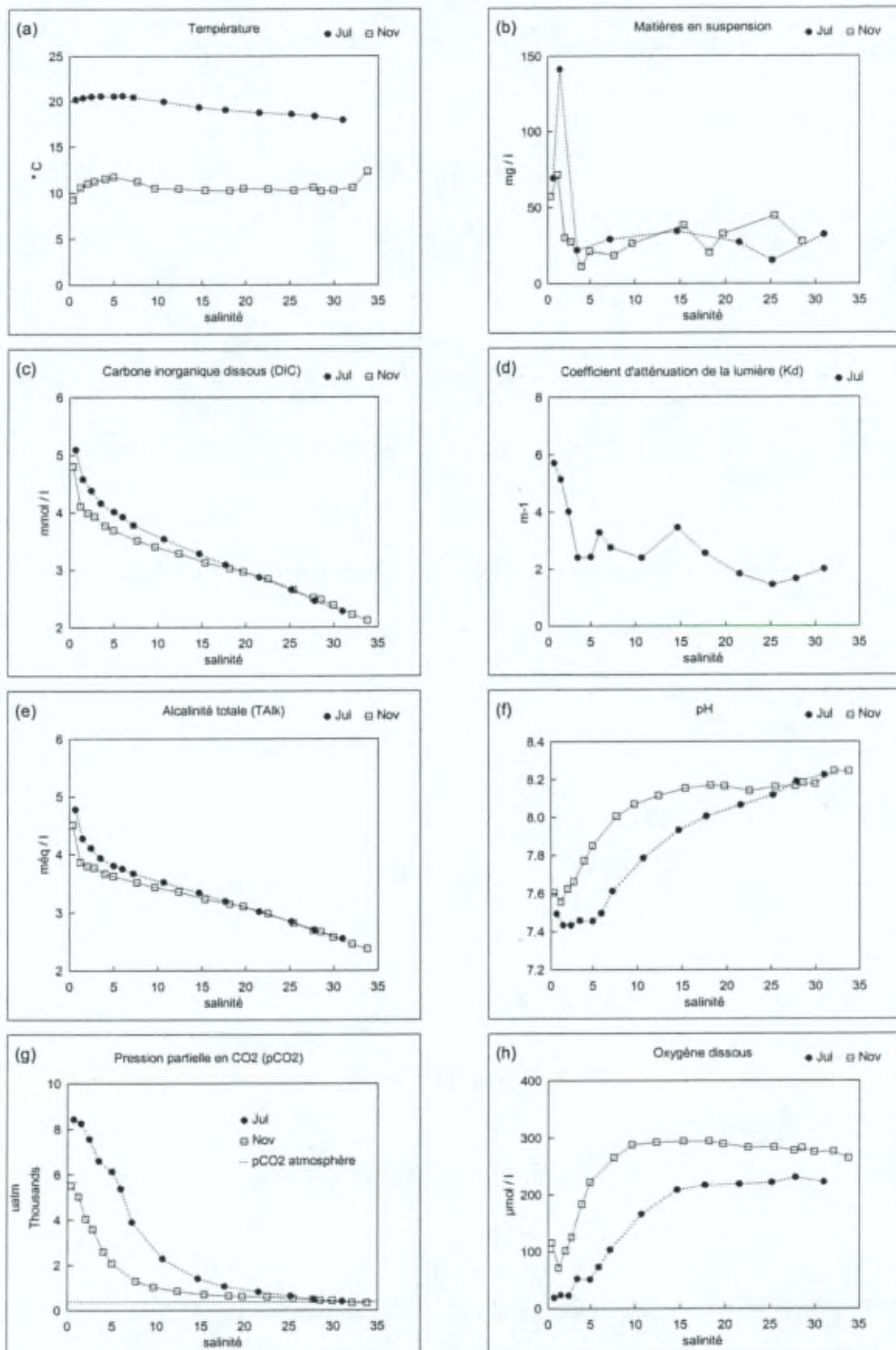


Planche C : Evolutions longitudinales des paramètres physiques et chimiques dans l'estuaire aval de l'Escaut en juillet et novembre 2000. Les figures c, e, f, g, et h établies à partir de données récoltées par A. Borges sont présentées avec la permission de leur auteur.

Evolutions longitudinales: estuaire aval

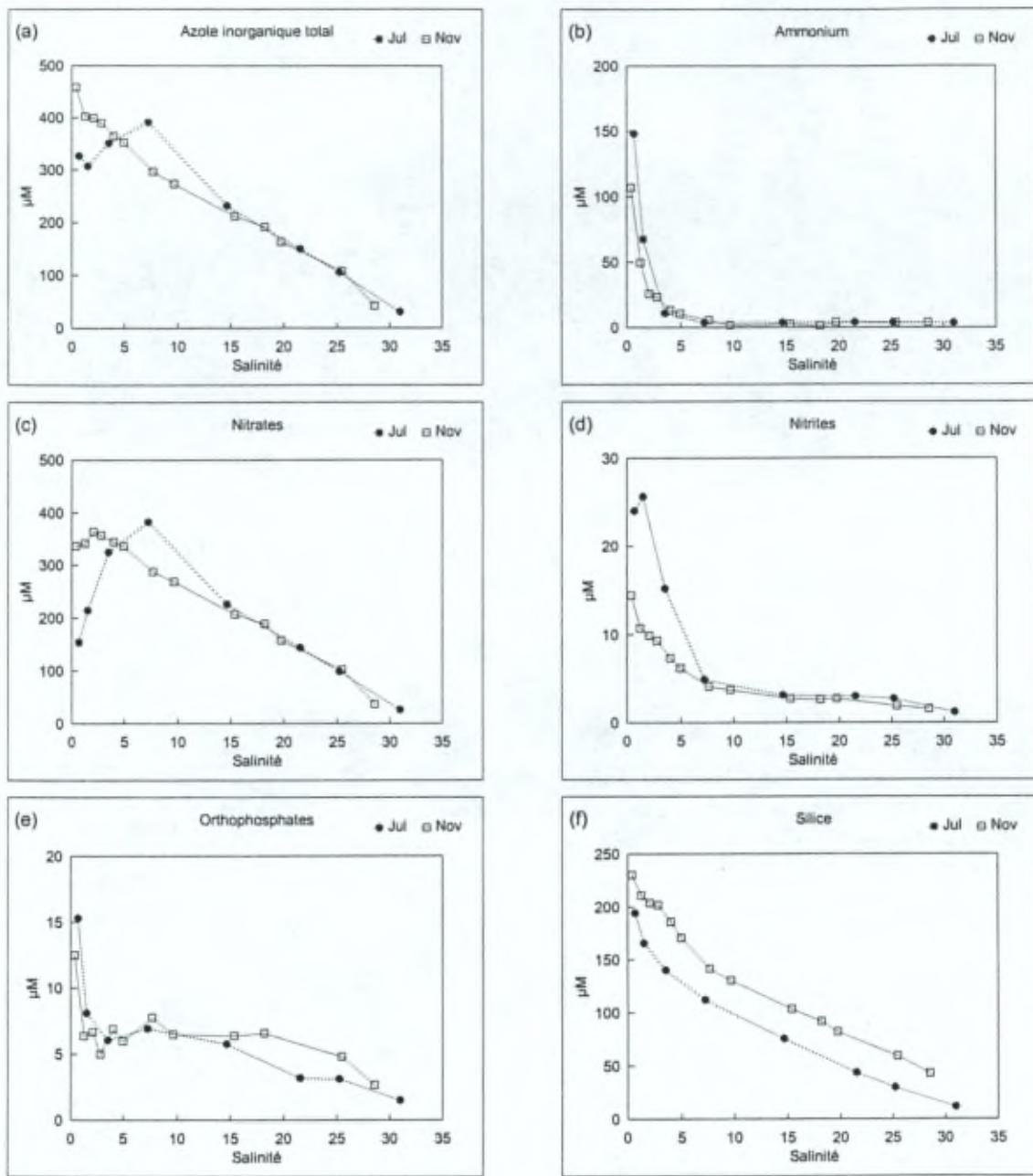


Planche D : Evolutions longitudinales des nutriments dans l'estuaire aval de l'Escaut en juillet et novembre 2000.

Evolutions longitudinales: estuaire aval

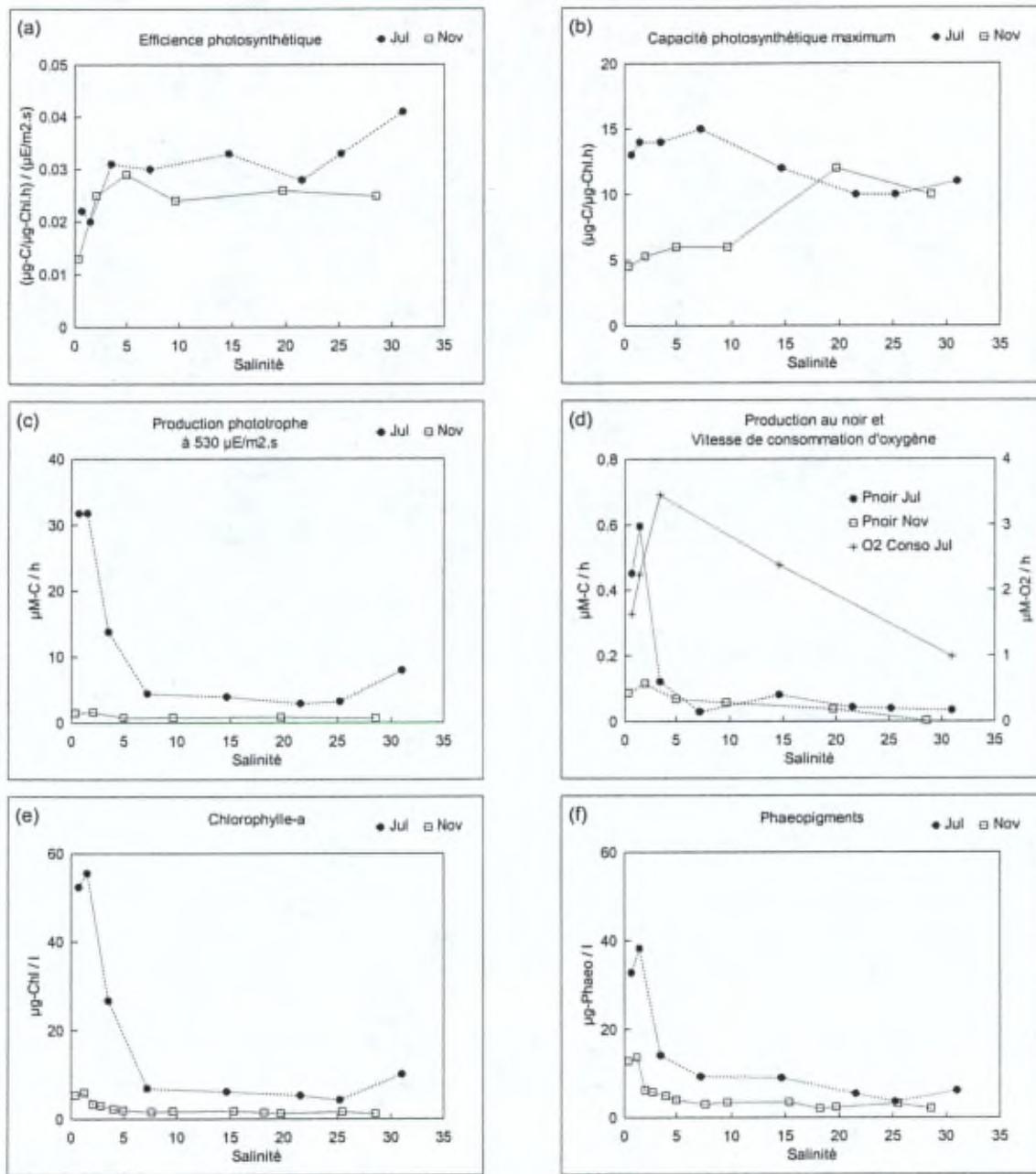


Planche E : Evolutions longitudinales des paramètres biologiques dans l'estuaire aval de l'Escaut en juillet et novembre 2000.
La figure (d) présente la production au noir (échelle de gauche) et la vitesse de consommation de l'oxygène dissous (échelle de droite).

Evolutions temporelles en un point fixe (Sint-Anna, région oligohaline)

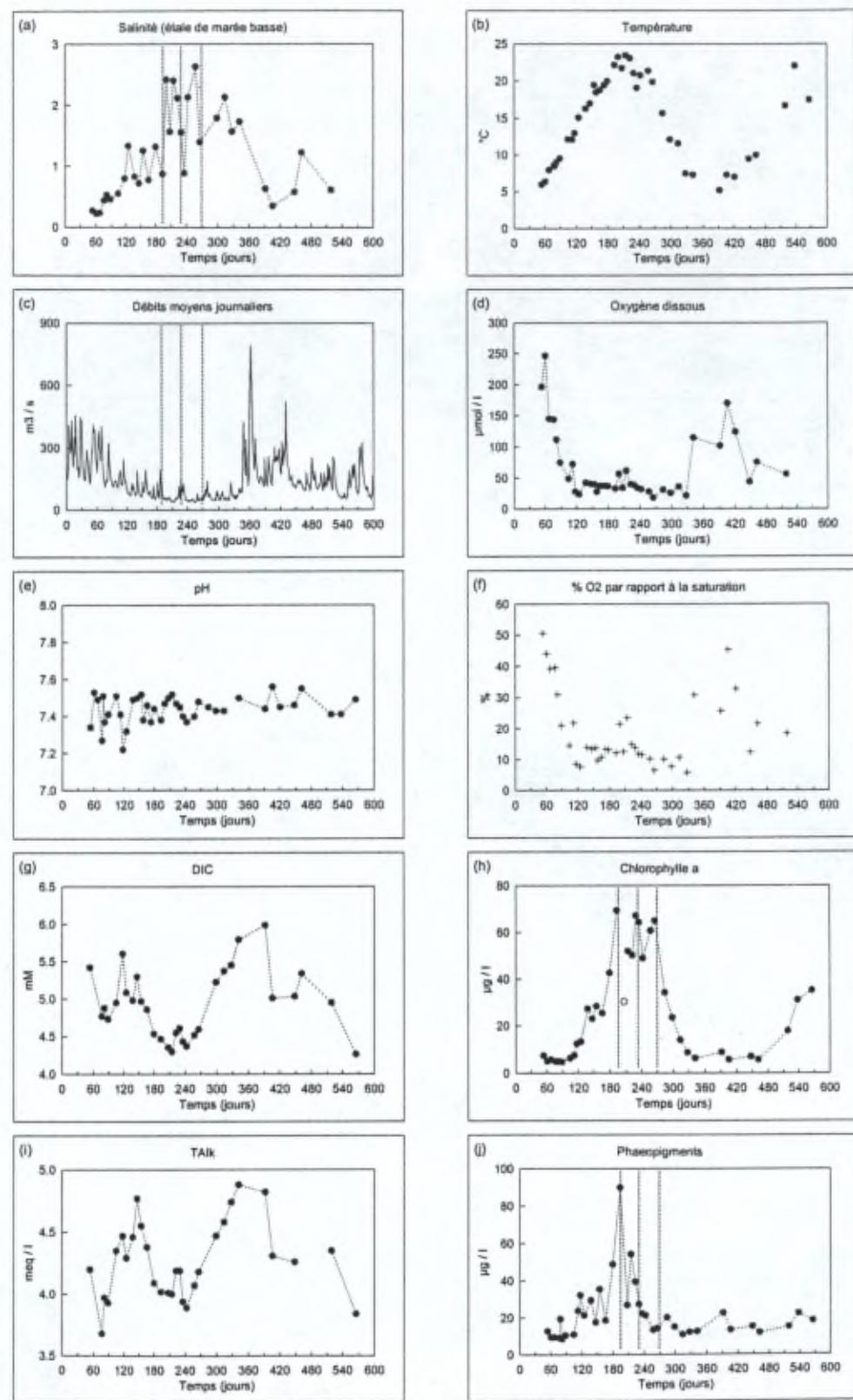


Planche F : Evolutions temporelles des principaux paramètres physiques et chimiques à Sint-Anna (Antwerpen; km 73) durant les années 1999 et 2000. Le zéro d'abscisse correspond au 01/01/1999. Les droites verticales marquent les jours où nous avons observé des maxima pour la concentration en chlorophylle a. Ces maxima sont clairement à mettre en corrélation avec les augmentations du débit et les diminutions de salinités en été. Tous les prélevements ont été effectués à l'étau de marée basse, à l'exception des mesures du débit d'amont.

Evolutions temporelles en un point fixe (Sint-Anna, région oligohaline)

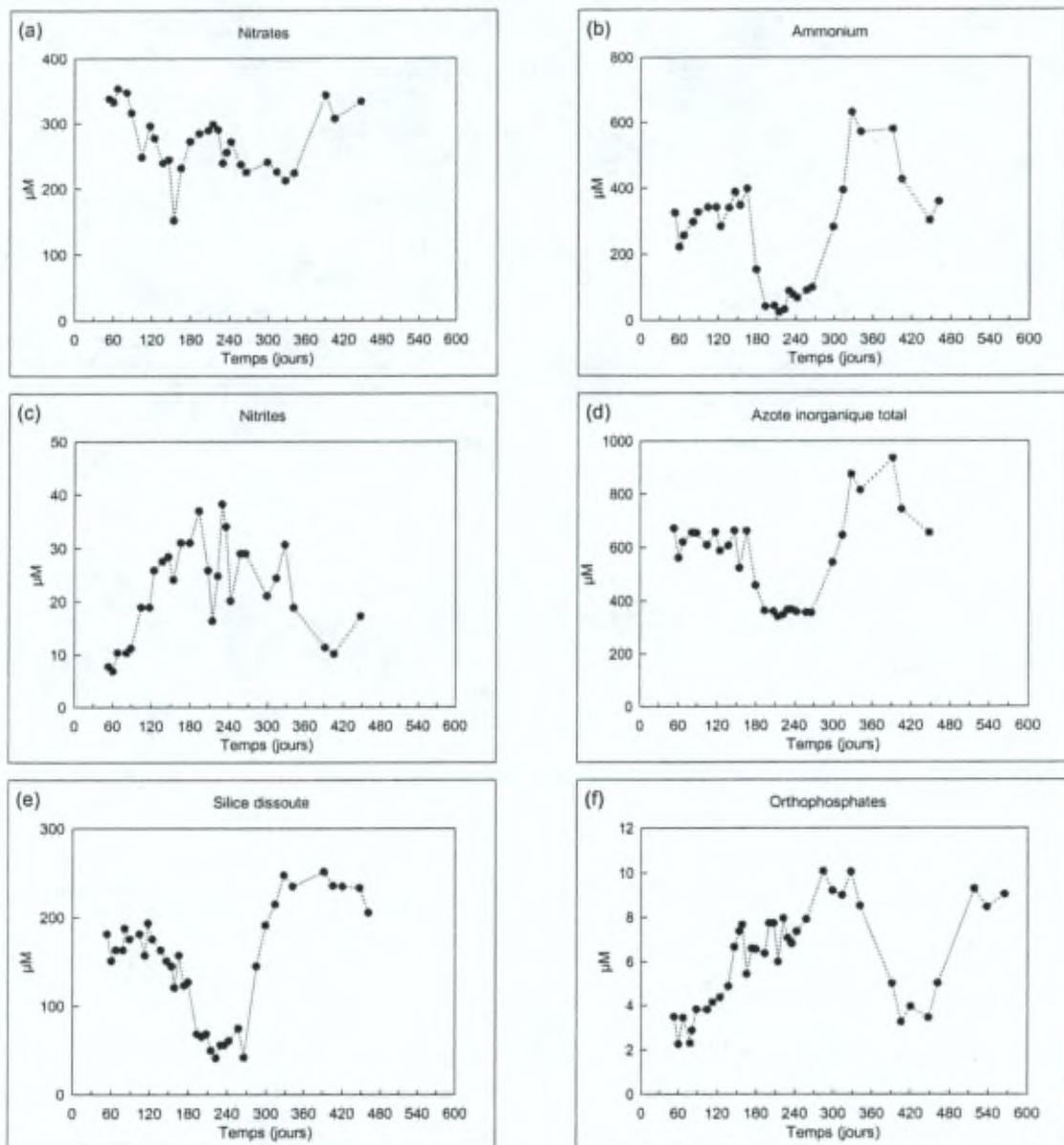


Planche G : Evolutions temporelles des nutriments à Sint-Anna (Antwerpen; km 73) durant les années 1999 et 2000. Le zéro d'abscisse correspond au 01/01/1999. Tous les prélèvements ont été effectués à l'étalement de marée basse.

Evolutions temporelles en un point fixe (Sint-Anna, région oligohaline)

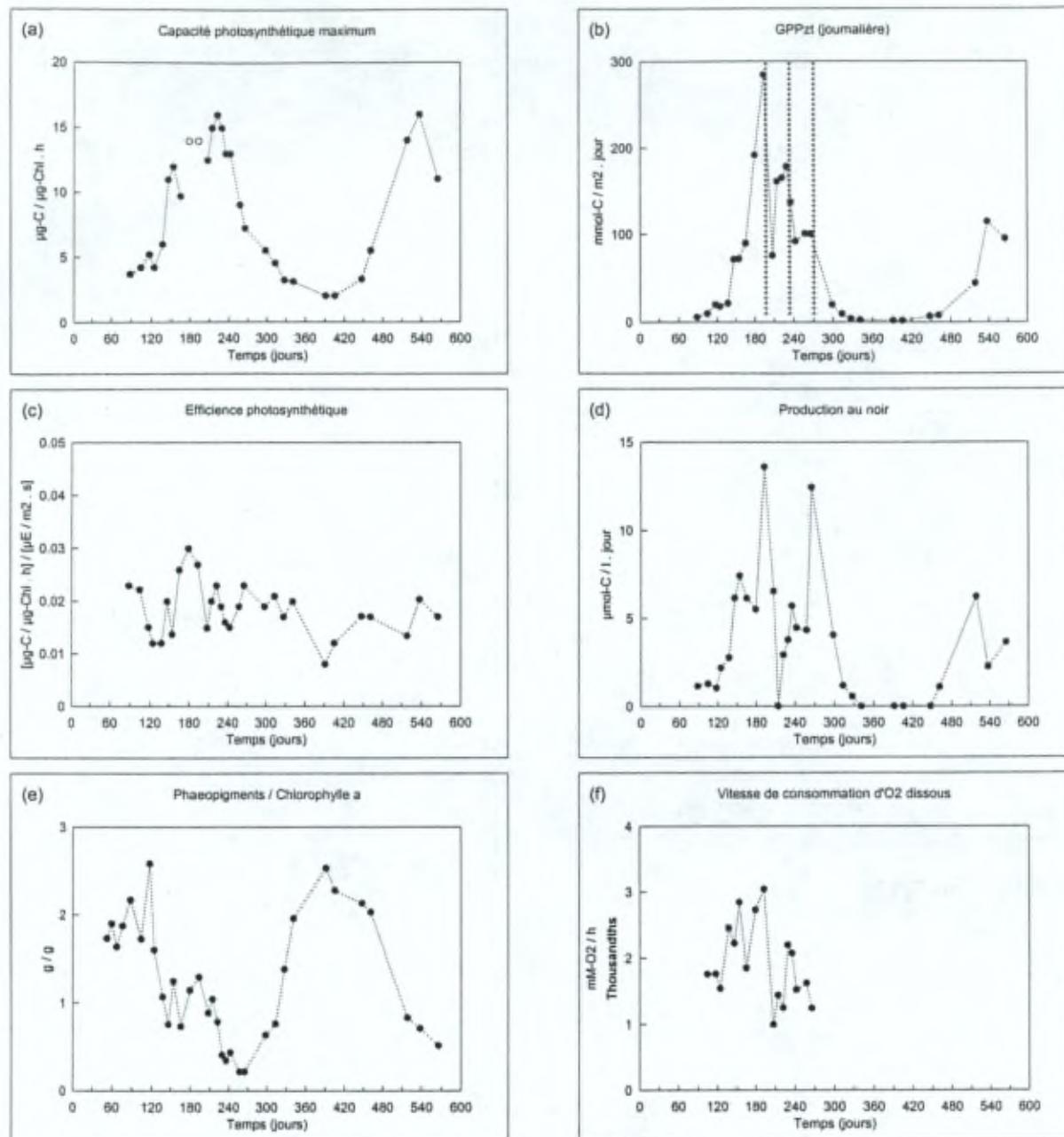


Planche H : Evolutions temporelles des principaux paramètres biologiques à Sint-Anna (Antwerpen; km 73) durant les années 1999 et 2000. Le zéro d'abscisse correspond au 01/01/1999. Les droites verticales marquent les périodes affichant des maxima de concentration en chlorophylle a. L'évolution de la GPP_{ztl} est fortement influencée par la variabilité de la chlorophylle a. Tous les prélevements ont été effectués à l'étalement de marée basse.
Les cercles creux de la figure (a) représentent des valeurs estimées de la capacité photosynthétique maximum.

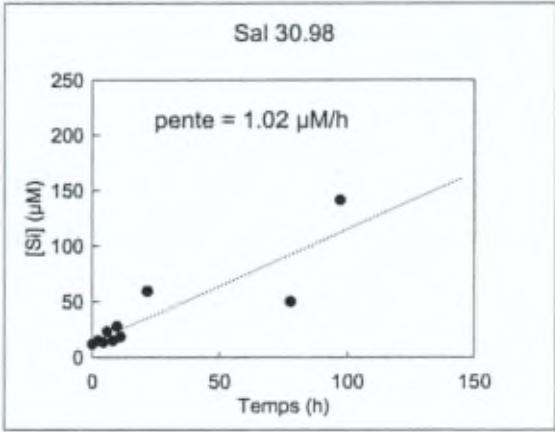
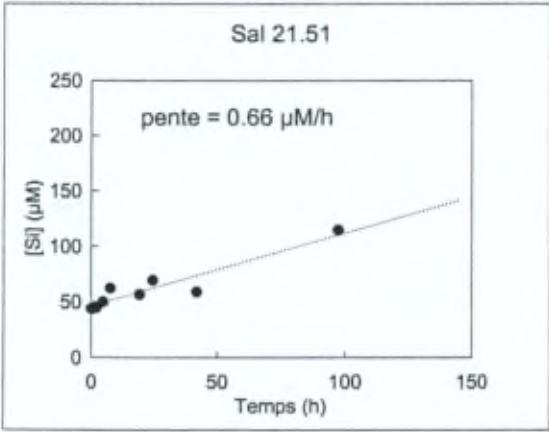
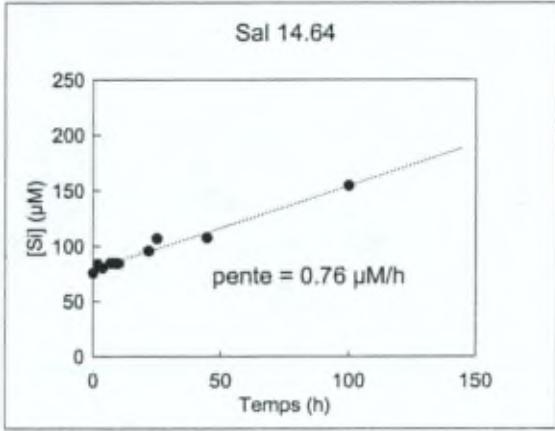
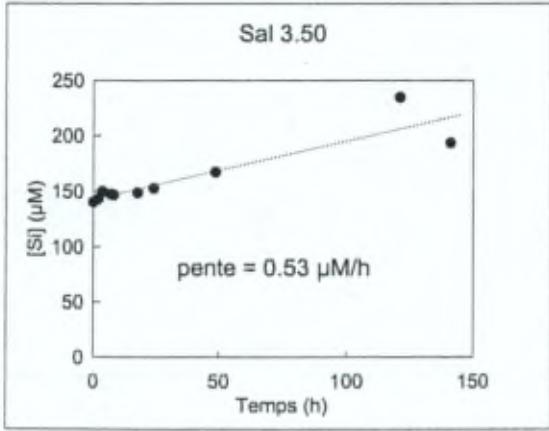
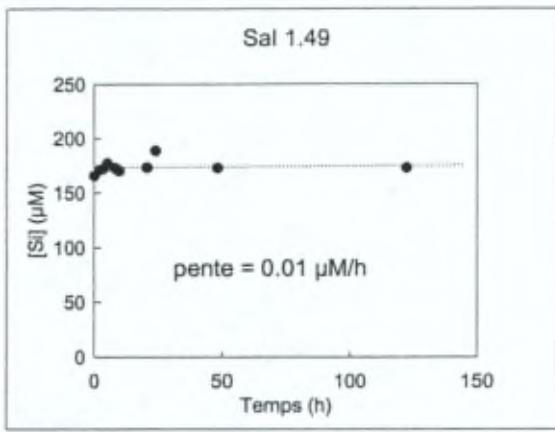
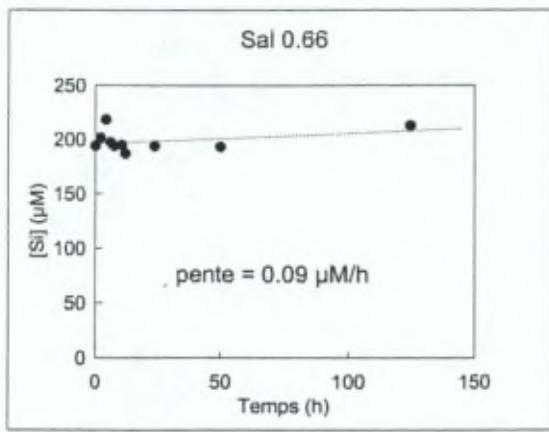


Planche Si :

Cinétiques d'évolution de la silice dissoute à différentes salinités lors d'incubations au noir à la température du milieu (Escaut juillet 2000; avec la permission de B. Bastin et de M. Loijens).

Chapitre 4

La production primaire du phytoplancton: définitions et mécanismes

Introduction

L'étude de la production phytoplanctonique ne se résume généralement pas à la mesure de la photosynthèse qui se déroule au sein du chloroplaste. En étudiant la production primaire du phytoplancton, on est souvent amené à considérer un ensemble d'autres processus qui peuvent affecter l'interprétation des résultats expérimentaux. Parmi ces processus, on compte par exemple la respiration algale (Weger et al. 1989; Langdon 1993; Lewitus et Kana 1995), l'excrétion (Mague et al. 1980; Otero et Vincenzini 2004), la photoinhibition (Platt et al. 1980; Melis 1999; Macedo et al. 2002), la photoacclimatation (Geider et al. 1997; Han 2002; MacIntyre et al. 2002), la photorespiration (Geider et MacIntyre 2002), les mécanismes de concentration du carbone (Reinfelder et al. 2000; Moroney 2002), l'assimilation des nutriments (Lancelot et al. 1986; Riebesell et Wolf-Gladrow 2002), etc. Tous ces processus participent ensemble à l'économie de la cellule, et ils sont donc étroitement liés à sa croissance. Ce chapitre a deux objectifs. D'une part, il s'agit de rappeler à partir d'une compilation de la littérature les définitions fondamentales de la production phytoplanctonique. D'autre part, nous présentons une description des différents mécanismes dont nous tiendrons compte selon les cas dans la modélisation de la production phytoplanctonique présentée aux chapitres suivants.

4.1 Commentaires sur les définitions

4.1.1 Photosynthèse

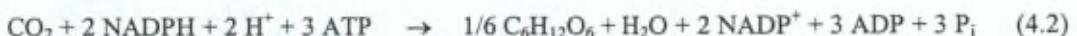
Williams (1993a) donne une définition générale de la photosynthèse:

Photosynthesis is the conversion of light into metabolic energy

D'après Falkowski et Raven (1997):

Photosynthesis is the biological conversion of light energy to chemical bond energy that is stored in the form of organic carbon compounds

La photosynthèse rassemble une série de réactions qui commencent avec l'absorption d'énergie lumineuse, impliquent la synthèse des intermédiaires ATP et NADPH, et conduisent à la fixation du CO₂ au cours du cycle de Calvin (Falkowski et Raven 1997). La succession de ces processus est complexe, et les différentes étapes sont compartimentées au sein de la cellule. Cette compartimentation spatiale et temporelle constitue l'un des aspects fondamentaux du vivant, et permet, entre autres, des mécanismes comme la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques, la synthèse d'ATP par gradient de protons, la photoréduction de composés oxydés ou la respiration de composés réduits. En ce qui concerne la photosynthèse, la compartimentation est traditionnellement énoncée à l'aide des concepts de "réaction à la lumière" et de "réaction au noir". La "réaction à la lumière" est la réaction au cours de laquelle l'oxygène est produit dans le chloroplaste à partir d'eau et d'énergie lumineuse (éq. 4.1). La "réaction au noir", est la réaction de fixation du carbone sous forme de précurseur organique; cette réaction ne nécessite pas de lumière (éq. 4.2). A l'heure actuelle, bien que ces deux expressions n'aient pas perdu leur pertinence, une meilleure compréhension de la structure des chloroplastes et des mécanismes biochimiques autorise parallèlement une description plus précise de la photosynthèse (Geider et MacIntyre 2002). L'équation 4.1 résume la récolte des photons lumineux, le transfert des électrons photosynthétiques et la production de ATP/NADPH. L'équation 4.2 résume le cycle de réduction du carbone photosynthétique, ou Cycle de Calvin.



La photosynthèse est parfois réduite à sa plus simple expression (équation 4.3). Aussi utile que puisse paraître cette équation d'un point de vue thermodynamique, elle n'est d'aucune utilité dans la description cinétique de la photosynthèse puisqu'elle ne tient aucun compte de la compartimentation du chloroplaste.

4.1.2 Production primaire du phytoplancton

La production primaire du phytoplancton, puisqu'elle est mesurée et interprétée comme une vitesse, est avant tout une affaire de cinétique. Théoriquement, la compartimentation implique que les cycles intracellulaires de l'oxygène et du carbone soient associés à des mécanismes différents. Pour preuve, selon que l'on mesure la production primaire par la méthode du ^{14}C ou par celle de l' O_2 dissous¹, on mesurera des productions différentes (Williams et al. 1979; Bender et al. 1987). Sur la base de plusieurs intercalibrations, le quotient photosynthétique a été établi pour tenter de réconcilier les résultats provenant des différentes techniques (Williams et al. 1979). Toutefois, ce quotient peut varier considérablement d'une expérience à l'autre. Cette variation est reliée, entre autres, de façon complexe à la disponibilité des ressources en ions nitrates et ammonium (Falkowski et Raven 1997). Donc, pour établir sur une base physiologique un lien entre les deux techniques, il s'agit de mieux comprendre la façon dont l'incorporation de nutriments intervient dans la production phytoplanctonique et dans la croissance de la cellule. En conséquence, l'équation 4.3 dans sa simplicité ne peut pas constituer la base d'un modèle de la production primaire, ni du point de vue cinétique (compartimentation) ni du point de vue thermodynamique (nutriments).

Aujourd'hui encore, la vitesse d'incorporation du carbone par le phytoplancton et la vitesse de production de l'oxygène photosynthétique sont toutes deux appelées production primaire du phytoplancton. Une question évidente pourrait être: "parmi les différentes techniques, laquelle mesure la *vraie* production primaire ?" Tenter de répondre à cette

¹ Cette équation compte 8 photons pour oxyder deux molécules d'eau en une molécule d'oxygène. En effet, il faut théoriquement compter quatre photons par photosystème, et la réaction de transfert linéaire d'électrons photosynthétiques fait intervenir deux photosystèmes (PSI et PSII) pour réduire NADP^+ . P_i est mis pour orthophosphate inorganique.

question reviendrait à fournir une "**définition opérationnelle**" de la production primaire, c'est-à-dire une définition liée à la technique de mesure. Mais, par opposition, si la définition de la production primaire devait échapper aux contraintes expérimentales, ce serait une "**définition absolue**". Dans ce cas, comment la formuler ? Dans la suite de ce chapitre, nous nous efforçons de faire la part des choses parmi les définitions existantes, de les critiquer, et enfin de faire le choix d'une définition qui soit valable pour l'ensemble de notre travail.

4.1.3 Production brute et production nette

Les concepts de productions primaires brute (GPP) et nette (NPP) ont été introduits vers 1940 par Riley (Williams 1993a). De cette manière, une différence a pu être établie entre d'une part la production de matière organique par l'activité photosynthétique (équivalent de GPP), et d'autre part, la production d'organismes phytoplanctoniques, par accroissement ou remplacement de la population préexistante (équivalent de NPP). Ces concepts ont été développés dans le but de prendre en compte la perte de matière organique lors de la respiration algale, Ra, et lors de l'excrétion (éq. 4.4; voir aussi plus bas dans le paragraphe "Définitions de la littérature").

$$\text{NPP} = \text{GPP} - \text{Ra} \quad (4.4)$$

D'un point de vue opérationnel, la GPP est parfois vue comme la vitesse de production d'oxygène photosynthétique telle que mesurée par la méthode de l'O₂ dissous (Marra 2002). Cependant, dans certaines circonstances, la respiration algale à la lumière diffère considérablement de celle au noir (Weger et al. 1989); or cela introduit de larges incertitudes dans la mesure par la technique de l'oxygène dissous (Langdon 1993; Marra 2002). En conséquence, on se réfère actuellement davantage à la technique du ¹⁸O pour mesurer la GPP (Bender et al. 1987). En effet, celle-ci reflète directement la vitesse de production d'oxygène photosynthétique à partir de H₂O (Grande et al. 1989). La GPP peut également être mesurée comme la vitesse d'incorporation du ¹⁴C après un court temps d'incubation, c'est-à-dire environ une heure selon le consensus général. Pour des temps d'incubation plus grands, le ¹⁴C incorporé est en partie expulsé hors de la cellule par la respiration autotrophe, lorsque le rapport isotopique cellulaire ¹²C/¹⁴C devient significatif. Dans ce cas, la mesure de la production primaire par incorporation de ¹⁴C se rapproche plus de la production nette, sans forcément l'atteindre (Williams 1993b ; Williams et al. 1979, et voir chapitre 5).

¹ Par méthode de l'oxygène dissous, nous entendons la méthode dite « light-dark bottle technique ».

Steemann Nielsen, en 1963:

Gross primary production: rate of real photosynthesis

Net primary production: rate of real photosynthesis less the rate of respiration by the algae

Williams (1993a) apprécie le caractère dépouillé de ces définitions. Il observe en revanche que pour les accepter, nous devrions d'abord comprendre ce que Steemann Nielsen entend par "real photosynthesis". Williams présume qu'il s'agit du processus photosynthétique primaire. A notre tour, nous pouvons présumer que ce processus doit être la synthèse d'oxygène à partir d'eau et d'énergie lumineuse. Dans tous les cas, nous constatons que cet éloignement d'une formulation opérationnelle conduit à une ambiguïté dans la définition de la production primaire.

Platt et ses co-auteurs, entre 1977 et 1984:

Since we are more interested here in the ecological rather than the biophysical aspects of photosynthesis, and since our models have a strong empirical flavor, we adopt the carbon definition, which corresponds better with the measurement techniques used in oceanography.

Gross primary production (P_g) is equal to the rate of photosynthetic conversion of light energy into chemical bond energy

Net productivity (P_n) is simply $P_g - R_a$

It is useful to distinguish also net particulate production (P_p) which differs from P_n by the rate of excretion (E_{cr}) of organic carbon from the cell: $P_p = P_n - E_{cr}$. For herbivores, P_p is the quantity of interest rather than P_n . [...] We can conclude that models in which P_p is the dependent variable are to be preferred.

Le set de définitions se précise mais se rallonge. Platt choisit d'orienter sa définition vers le flux de carbone, et il précise que ce choix est lié au point de vue depuis lequel il étudie la photosynthèse: à savoir, l'échelle écologique. Cependant, il établit un ensemble de définitions suffisamment générales pour être valables dans le cas des autres unités de matière et d'énergie (O_2 , NADPH, ...). Grâce à la définition de la production particulaire, une distinction peut être faite entre production nette, production dissoute et production particulaire. Dans cette optique, la production nette (P_n) peut être vue comme la quantité totale de matière organique, dissoute et particulaire, d'origine photoautotrophe accessible aux autres niveaux trophiques (bactéries, phytoplancton mixotrophe, zooplancton, ...).

Dans "On the definition of plankton production terms", Williams (1993a) commence par relier la définition et la mesure d'un processus:

It must be axiomatic that one cannot measure what is not defined, and that the accuracy of our measurements is no better than that of our definitions.

Nul doute qu'il exclut toute autre option que la définition opérationnelle. A ce sujet:

Oxygen may be argued to be a practical surrogate for energy (phlogiston would have been better) being metabolically intimately and inevitably associated with biochemical energy transformation [...]. There are obvious practical problems if this were to be put forward as the sole basis for an operational definition. Oxygen is really a by-product of photosynthesis and although organic material (or reduced carbon) when it passes through a food web may be viewed as an oxygen debt (essentially the same as the free energy concept), it would be of no practical value in constructing food chain models.

Carbon clearly is the other choice: it is one of the other two major elements involved in the photosynthetic process. [...] Organic carbon as a basis for production terminology has the disadvantage over oxygen as a product of photosynthesis that the photosynthetic product, organic carbon, occurs in a variety of chemical forms, physical states, and ecological compartments, and therefore greater prescription of the location and nature of the product is necessary.

One may put forward carbon-based definitions for gross and net primary production as follows:

Gross primary carbon production (Pg^C) is the organic carbon produced by the reduction of carbon as a consequence of the photosynthetic process over some specified period of time.

Net primary carbon production is gross primary carbon production minus the losses in carbon due to autotrophic respiration = $Pg^C - Ra^C$ over some specified period of time.

Williams conclut:

I have come to the conclusion that we need to continue to use two general forms of definitions – one set based on energy and the other on material, carbon being the appropriate form. As oxygen metabolism is closely associated with energy flux, it may approximate to energy flux. We should note that the photosynthetic flux of material (i.e. carbon) and energy are not linked stoichiometrically; their relative rates of metabolism are controlled by other processes going on inside the cell, e.g., the reduction of nitrate.

Karl et al. (2002) considèrent que le terme de "production" est équivoque. Ils adoptent donc un set de définitions "explicites" tirées des publications de Strickland (1960), Williams (1993a) et Sakshaug et al. (1997). Sans les énoncer, nous observons qu'il s'agit de quatre définitions exclusivement centrées sur les flux de carbone. Ils définissent les

De manière générale, Geider et MacIntyre (2002) estiment que la production primaire peut être quantifiée selon quatre unités: les photons, les électrons, l'oxygène et le carbone. Dès lors, une autre question se pose: "faut-il définir les processus primaires en termes de flux d'énergie ou de flux de matière?" Mais pour cette question, il n'existe pas jusqu'à présent d'argument décisif qui pourrait nous contraindre à orienter notre définition dans l'une ou l'autre direction (Williams 1993a). Il faut noter que, plus récemment, Behrenfeld et al. (2004) ont argumenté en faveur d'une description de la photosynthèse à partir des produits fondamentaux NADPH et ATP, plutôt qu'à partir de carbone et d'oxygène. Mais ce point de vue très actuel nécessite une compréhension toujours plus détaillée des processus intracellulaires liés à la photosynthèse, et malgré la connaissance accumulée dans ce domaine, une telle description de la photosynthèse reste très difficile à appliquer à l'échelle d'un écosystème complet.

4.1.4 La question du changement d'échelle

Cette question ne soulève pas seulement des difficultés au niveau de la modélisation, mais elle en soulève également au niveau expérimental. Marra (2002) met en évidence les difficultés inhérentes à l'évaluation de la production journalière du phytoplancton dans un écosystème naturel. Le point essentiel de sa remarque concerne l'évaluation de la vitesse réelle d'assimilation du carbone ("real rate of carbon assimilation"). Selon lui, en créant des modèles allant de la colonne d'eau à l'écosystème global, ou de la colonne d'eau à l'incubateur, le scientifique s'éloigne de l'échelle locale. Cet éloignement est source d'incertitudes sur la vitesse réelle d'assimilation du carbone dans le milieu naturel.

On peut se demander quelles sont les limites du concept de production primaire. Car, si ce concept est très utile à l'échelle de l'écosystème, il est peut-être totalement inapproprié à l'échelle de la cellule. On distingue deux productions primaires à grande échelle: GPP et NPP. Mais à l'échelle cellulaire, il faut encore établir des distinctions plus précises, ou changer radicalement notre conception de la production primaire. De nombreuses contributions ont été apportées au cours des deux dernières décennies pour explorer plus en détails certains mécanismes intracellulaires (par exemple : la respiration algale, la photoacclimatation, les mécanismes de concentration du carbone,...). Aujourd'hui, l'une des difficultés de la recherche dans ce domaine est d'établir le lien entre la connaissance des mécanismes intracellulaires et les résultats expérimentaux obtenus à grande échelle.

4.1.5 Définitions de la littérature

Après avoir soulevé quelques-unes des questions attachées à notre compréhension de la production phytoplanctonique, nous revenons à la définition proprement dite de la production primaire du phytoplancton telle qu'elle est énoncée dans la littérature. Ces définitions sont pour la plupart extraites de l'article de Williams (1993a) qui retrace l'évolution chronologique du concept de production primaire. En revanche, sauf si spécifié, les commentaires qui suivent sont personnels et n'engagent que nous.

En 1960, Strickland pose des définitions qui marquent une étape après la distinction faite par Riley en 1940 entre GPP et NPP (voir plus haut).

Net primary production: The net rate of autosynthesis of the organic constituents of plant material in water. This will again be measured on the basis of organic carbon per unit volume [...], with the time scale chosen to suit a particular context. [...] The measurement does not include the rate of loss of primary material by death or predation.

Gross primary production: The definition and units are the same as those used above for net productivity except that the rate under consideration is the gross rate of the photosynthetic increase in plant crop before any corrections for respiration or excretion are made.

The terms gross and net are used in conjunction with photosynthesis to distinguish between the true synthesis of organic matter resulting from exposure to light (gross) and the net formation of organic matter that is found after allowance has been made for the respiration and other losses that occur simultaneously with the photosynthetic processes.

Plusieurs observations peuvent être tirées de ces définitions. D'abord, Strickland pose une définition opérationnelle car en fixant les unités de la production primaire de cette façon, il choisit de la définir comme un flux de carbone. Deuxièmement, il laisse à l'expérimentateur le choix de l'échelle de temps sur laquelle celui-ci doit moyenner ses résultats pour obtenir la production sous la forme d'une vitesse. Troisièmement, il observe de façon claire que la production nette doit être évaluée indépendamment des processus qui affectent la biomasse (mortalité et préddation). Il établit donc une distinction entre la production et la biomasse, comme on le ferait entre un flux et un stock. Quatrièmement, il pose les bases d'une réflexion sur la compartmentation intracellulaire de la production primaire, puisqu'il distingue la production des sucres précurseurs (GPP ou true synthesis) et la production des tissus et des stocks (NPP ou net formation). Enfin, il ne fait pas de distinction entre "production" et "productivité".

gross primary carbon production, net primary carbon production, net community carbon production, et phototrophic carbon production.

Falkowski et Raven (1997) abordent deux notions, photosynthèse et production, en s'attachant à deux points de vue, celui du physiologiste et celui de l'écologue.

Plant physiologists define the term *gross photosynthesis*, Pg, as the light-dependent rate of electron flow from water to terminal acceptors (e.g. CO₂) in the absence of any respiratory losses. It follows that this definition of Pg is directly proportional to linear photosynthetic electron transport and hence, gross oxygen evolution. (It should be noted that gross photosynthesis should be defined on the basis of oxygen evolution rather than carbon fixation. This difference is critical, especially if photorespiratory rates are high. [...] In marine environments, the photorespiratory components are assumed to be relatively small; however, a large fraction of photosynthetically generated electrons are often used to reduce nitrate because the C:N ratio of the cells is generally closed to Redfield's average value of 6.6 by atoms.)

By definition, photosynthesis only occurs in the light. Respiratory losses in the light, R_l, reduce the gross photosynthetic rate. The difference Pg – R_l, is called *net photosynthesis*, P_n. The three terms (Pg, P_n, R_l) are all rates; that is, they describe the rate of change of time-dependent processes.

Ecologists use the terms *gross and net primary production*. Gross primary production is the total amount of electron equivalents originating from the photochemical oxidation of water. It is identical to gross photosynthesis.

Net primary production, however, denotes the organic carbon that has been produced by photosynthetic processes within a specified time period of (presumably) ecological relevance (e.g., daily primary production, annual primary production, etc.), which is subsequently made available to other trophic levels. Net primary production (NPP) is related to net photosynthesis by the dark respiration of the photoautotrophs, R_d.

$$\text{NPP} = \text{P}_n - \text{R}_d$$

Net photosynthesis is the net organic carbon production in the light. Net primary production can (and usually does) include a dark period with an associated respiratory loss of carbon.

A nouveau, en posant des définitions propres au point de vue des physiologistes ou à celui des écologistes, les auteurs mettent en avant, presque comme un paradigme, la rupture existante au sein de notre compréhension entre les processus se déroulant à l'échelle cellulaire et ceux prenant place à l'échelle de l'écosystème. Falkowski et Raven sont à la limite de la définition opérationnelle. Leurs définitions reposent toutes sur la vitesse du flux d'électrons photosynthétiques, c'est-à-dire une grandeur qui sort du champ de l'observation. Toutefois, ils rejoignent à pieds joints le domaine expérimental en reliant ce

flux d'électrons à la production d'oxygène, et donc – selon notre interprétation – à la technique du ^{18}O (Grande, Williams et al. 1989). Leur choix de l'oxygène comme unité de base de leurs définitions leur permet d'éviter la question des nutriments lors de l'estimation de la photosynthèse. Le problème est le suivant : selon la disponibilité en nitrate ou en ammonium, les électrons photosynthétiques seront plus ou moins détournés de l'accepteur CO_2 vers les nitrates. Du point de vue du physiologiste qui tente de mettre en relation la mesure de la photosynthèse avec le nombre et la qualité des systèmes pigmentaires, ce détournement des électrons photosynthétiques est un obstacle évident. On comprend pourquoi le physiologiste préfère relier la photosynthèse directement à la production d'oxygène. Comme le dit Williams (voir plus haut), l'oxygène est plus approprié pour mesurer les flux d'énergie.

4.1.6 Production et productivité

Dans la littérature, il subsiste une confusion endémique entre les termes de production et de productivité. Certains auteurs tentent cependant de faire le point. Ainsi, Williams (1993a) :

Various authors have discussed the terms "production" and "productivity" and have come to the conclusion that owing to casual confused use or misuse, one or other of the terms should be abandoned. [...] whereas production is a concrete term, productivity is qualitative and more abstract. [...] Production (or the rate of production) would seem to be the term to retain as the defined property ("...the annual production was..."), whereas productivity (as fertility) is best retained for the qualitative description of the level of production ("...a period of high productivity...").

L'intérêt essentiel de cette nuance est d'écartier définitivement la confusion planant sur les deux termes. Cet objectif-là est sans doute atteint puisque l'auteur "désamorce" en quelque sorte la notion de productivité en la relayant dans le domaine du qualitatif. Dans leur ouvrage "Aquatic Photosynthesis", Falkowski et Raven (1997) exposent dans une note en bas de page :

The terms primary productivity and primary production are frequently confused. *Productivity* is, strictly speaking, a time-dependent process; it describes a rate of change with respect to time. Productivity is a rate with dimensions of mass/time. *Production* is a quantity, with dimensions of mass. In aquatic systems, primary production is generally reported in relation to a duration of time and hence can be related to productivity.

Malheureusement, les auteurs eux-mêmes ne semblent pas convaincus par leurs propos. En effet, ils disent une chose et son contraire. Ils présentent la production comme une quantité, mais ils ont précédemment identifié *primary production* à *gross photosynthesis*,

après avoir défini la *gross photosynthesis* comme une vitesse (voir plus haut). D'autre part, l'intérêt de la dernière phrase semble résider en ce qu'elle établit la nuance entre une vitesse moyenne (production rapportée au temps) et une vitesse instantanée (productivité). Mais ça reste confus étant donné ce qui précède.

A notre avis, la question peut être tranchée plus simplement en s'appuyant sur le sens préexistant des mots. Finalement, il suffit ici d'inventer une nuance utile et cohérente avec notre système de définitions. En effet, la nécessité de distinguer entre production et productivité n'est pas liée à une physiologie particulière de l'algue, ni à une méthode expérimentale. Cette nécessité émerge simplement de l'utilisation abusive au sein de la littérature de deux notions héritées d'une autre science, à savoir l'économie. Or il nous apparaît justement que le langage dérivé des sciences économiques s'avère très approprié pour démêler cet imbroglio, en l'occurrence en fournissant des définitions que nous adaptons ci-dessous :

La *production* est la variation d'une quantité divisée par l'intervalle de temps au cours duquel s'effectue la variation; c'est-à-dire, $\Delta q/\Delta t$. Dans le cadre de l'expérimentation, la vitesse instantanée de variation n'est obtenue que si la variation de l'observable est linéaire par rapport au temps dans les conditions de l'observation. Car dans ce cas, la vitesse moyenne de variation est égale à la vitesse instantanée de variation.

La *productivité* est une production spécifique; c'est à dire, une production rapportée aux moyens mis en oeuvre pour y parvenir. Les moyens mis en oeuvre sont tour à tour des machines, des cellules, des biomasses, des molécules de chlorophylle *a*, des unités photosynthétiques, etc. selon le système étudié.

Cette terminologie nous semble utile car elle permet aisément de considérer une population phytoplanctonique dont la productivité serait très grande tandis que sa production serait pratiquement nulle. Cette situation peut se rencontrer, par exemple, dans un système riche en nutriments où la disponibilité de la lumière est suffisante pour la croissance du phytoplancton, mais où la biomasse de celui-ci est très petite. Grâce à cette définition, la productivité donne une idée de la capacité potentielle d'une population algale à faire de la photosynthèse, tandis que la production indique la vitesse effective à laquelle la matière (C, O₂, ...) est transformée par l'action des organismes phytoplanctoniques dans le système considéré.

4.1.7 Vers une définition "non nova, sed nove"

Sans sortir carrément des voies préexistantes, nous voulons poser pour ce travail une définition qui s'appuie sur les définitions précédentes et qui tienne compte le plus possible des problèmes soulevés dans ce chapitre. Aussi loin que porte notre jugement sur la question, nous reconnaissons qu'il n'y a que trois manières de définir la production primaire du phytoplancton, et de la relier aux techniques d'observation (figure 4.1).

Définition absolue et vague: toutes les techniques d'observation mesurent la production primaire car la définition est trop large (e.g. le cas où l'on considère que les mesures par l' O_2 dissous et par le ^{14}C livrent des résultats identiques, par ailleurs égaux à la production primaire).

Définition absolue et idéale: la production primaire est un concept idéal et n'est pas un processus directement observable. Aucune technique d'observation ne mesure la production primaire, mais chacune d'entre elles peut l'approximer au moyen de modèles (e.g. définition de la GPP par Steemann Nielsen, voir plus haut).

Définition opérationnelle et arbitraire: la production primaire est le résultat de la mesure d'un processus choisi par une technique choisie. Les autres techniques mesurent d'autres processus qui peuvent être reliés au premier à l'aide d'un modèle (e.g. définition de la GPP par Falkowski, voir plus haut).

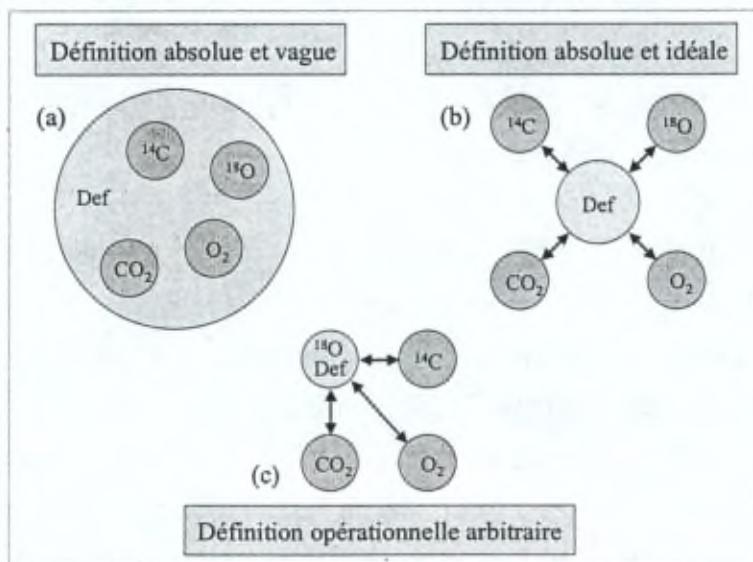


Figure 4.1: Les trois manières théoriques de définir la production phytoplanctonique. (a) définition absolue et vague, (b) définition absolue et idéale, (c) définition opérationnelle et arbitraire.

Quant à ces trois possibilités, la première qui est la plus vague devrait être abandonnée. En effet, des écarts significatifs apparaissent entre les résultats provenant des différentes techniques (Williams et al. 1979; Bender et al. 1987). Ceci montre que ces techniques mesurent bien des processus différents, et non pas une seule et même production primaire. Afin d'étudier la production primaire depuis les petites jusqu'aux grandes échelles et dans différents environnements, il faut que celle-ci soit observable et mesurable avec précision par une technique appropriée. Or en l'absence d'un modèle complet de la cellule qui relierait entre eux tous les mécanismes attachés à la croissance, il nous semble de bon sens d'éviter la définition absolue et idéale. Donc, il reste la définition opérationnelle qui associe un processus primaire, et sa technique d'observation, à la production.

Nous avons également observé qu'aucun auteur n'a défini la production primaire comme processus fondamental, mais tous l'ont définie au moyen de la production brute et de la production nette. En conséquence, malgré toutes les tentatives, la production primaire en tant que telle reste un concept imprécis dont la définition varie d'un auteur à l'autre. En revanche, toute l'attention s'étant portée sur les productions brute et nette, celles-ci apparaissent comme les véritables notions d'intérêt pour les océanographes. D'autre part, comme la production nette est souvent calculée à partir de la production brute, nous identifions la production brute comme la notion première devant faire l'objet d'une définition opérationnelle. En cela, nous suivons l'exemple de la définition de Falkowski (voir plus haut) que nous transformons légèrement. Voici la définition que nous proposons, et que nous adoptons pour ce qui concerne ce travail – elle est formulée en Anglais par facilité d'écriture, et par soucis de conserver les notions manipulées tout au long de ce chapitre :

Gross primary production of phytoplankton: light-dependent rate of electron flow from water to CO₂ acceptor in the absence of any respiratory losses. When ammonia is the main nitrogen source and photorespiration is negligible, this rate should be directly proportional to linear photosynthetic electron transport and hence, to gross oxygen evolution as measured with the ¹⁸O technique. It is identical to gross photosynthesis.

Net primary production of phytoplankton: gross primary production minus the losses due to autotrophic respiration.

$$\text{NPP} = \text{GPP} - \text{Ra}$$

Une part des électrons photosynthétiques peut être utilisée pour réduire les ions nitrates en ions ammonium (Falkowski et Raven 1997). C'est autant d'équivalents réducteurs qui sont détournés du cycle de Calvin, ce qui creuse l'écart entre la vitesse de fixation du carbone et la production brute. Mais dans un environnement eutrophe, la présence d'ions ammonium en grande quantité diminue la nécessité pour le phytoplancton d'incorporer et de réduire les nitrates.

Pour ce qui concerne la mesure de la production primaire, il est notoire que les vitesses d'incorporation de ^{14}C ne livrent ni la production brute ni la production nette, mais un résultat intermédiaire qui dépend de la durée d'incubation (Williams 1993b; Marra 2002). En effet, la respiration autotrophe introduit un relargage du carbone incorporé. De plus, d'autres processus qui dépendent du temps (e.g. photoinhibition et photoacclimatation) modifient les propriétés photosynthétiques du phytoplancton au cours d'une incubation. Toutefois, pour des petites durées d'incubation (~ 1 heure selon nos résultats du chapitre 5), la vitesse d'assimilation du ^{14}C peut être vue comme directement liée à la production phytoplanctonique brute.

4.1.8 Conclusion

A ce stade, nous avons constaté qu'une définition unique de la production primaire phytoplanctonique n'est pas encore établie. Lorsque de nouvelles techniques de mesure sont développées, certains auteurs s'attachent régulièrement à préciser la notion de production primaire. Cependant, au lieu de converger vers une seule définition, chaque tentative complexifie cette notion en rallongeant les sets de définitions préexistants. Il y a donc lieu de s'interroger sur la pertinence de la notion de production primaire. Quoiqu'il en soit, la majorité des auteurs tendent à préférer les différents sets de définitions opérationnelles, plutôt qu'une seule définition absolue et détachée des aspects expérimentaux. A l'heure actuelle, en effet, aucune définition absolue ne peut s'affranchir de sa part d'ambiguités.

Actuellement, on ne peut plus envisager la production primaire de la même façon à l'échelle cellulaire et à l'échelle environnementale. Si nous voulons intégrer nos mesures des paramètres physiologiques issues d'incubations à un modèle de production primaire en environnement naturel, nous devons être capables de faire le lien entre les processus microscopiques et macroscopiques. Pour cela, notre description des mécanismes cellulaires doit intégrer l'acclimatation du phytoplancton au changement, rapide ou lent, des conditions biogéochimiques du milieu naturel. Mais cela implique également qu'on

développe une description fine des mécanismes environnementaux qui agissent sur la croissance du phytoplancton.

4.2 Mécanismes cellulaires

Ce paragraphe décrit, sur base de la littérature, une série de mécanismes cellulaires directement liés à la photosynthèse et à la croissance algale. Cette description succincte, qui doit surtout servir de base au lecteur pour la compréhension des chapitres suivants, rappelle l'origine physiologique des mécanismes que nous utiliserons pour modéliser la production phytoplanctonique en incubateur et en estuaire.

4.2.1 Photosynthèse de précurseurs organiques

Pour réduire le cabone inorganique et le fixer sous forme de carbone organique dans ses tissus, la cellule algale a besoin d'énergie (ATP) et d'électrons réducteurs (NADPH¹). La formation de ces deux cofacteurs prend place au cours de la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques qui constitue la première étape de la photosynthèse. Ces deux cofacteurs se retrouvent ensuite dans le stroma du chloroplaste afin d'alimenter le cycle de Calvin.

4.2.1.a Chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques

La photosynthèse commence avec l'absorption de photons par les molécules de chlorophylle *a* et les pigments accessoires situés dans la membrane du thylakoïde (i.e. les antennes). L'exciton est acheminé de pigment en pigment jusqu'au centre réactionnel du photosystème. C'est au sein de cette structure protéique que se situe la molécule spéciale de chlorophylle P₆₈₀ (ou P₇₀₀)² qui constitue la destination finale de l'exciton avant la séparation de charge. On distingue actuellement deux types de photosystèmes chez le phytoplancton: le photosystème I (PSI) qui contient P₇₀₀, et le photosystème II (PSII) qui contient P₆₈₀. Le PSII a pour fonction d'arracher les électrons de l'eau, et d'initier la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques à destination du PSI (figure 4.2). Lorsqu'il reçoit l'électron énergétique, le PSI termine la chaîne en réduisant NADP⁺ en NADPH. En l'absence de cet électron photosynthétique, le PSI excité ne réduit pas NADP⁺ mais peut

¹ Alors que les deux cofacteurs, NADPH et NADH, sont thermodynamiquement isoénergétiques, leur formation et leur utilisation respectives se distinguent nettement chez les eucaryotes phototrophes. NADPH est formé dans le chloroplaste à partir du transfert d'électrons photosynthétiques et n'est pas transporté hors du chloroplaste. D'autres substrats peuvent être exportés hors du chloroplaste et être oxydés pour former NADH dans les réactions de respiration. (Falkowski & Raven 1997).

² Cette molécule est appelée P₆₈₀ ou P₇₀₀ selon que son maximum d'absorption se situe à 680 ou à 700 nm.

produire de l'ATP par l'intermédiaire du flux d'électron cyclique (Geider et MacIntyre 2002), ce qui permet à l'algue de réguler son rapport intracellulaire ATP/NADPH (Falkowski et Raven 1997). En conclusion, la photosynthèse de composés organiques nécessite une chaîne de transfert d'électron faisant intervenir de manière combinée les deux types de photosystèmes.

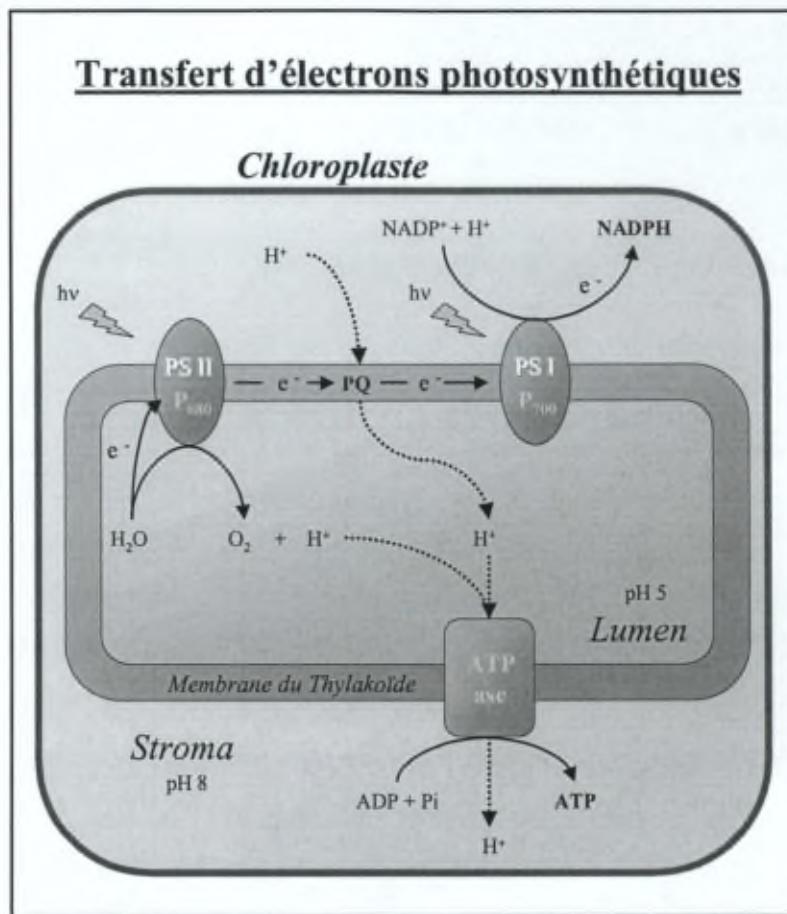


Figure 4.2: La synthèse des cofacteurs NADPH et ATP se fait par l'intermédiaire de la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques. PQ représente la plastoquinone mobile qui assure le transport intersystème de l'électron ; hv représente un photon; Pi est mis pour phosphate inorganique. Les flèches pleines (—) indiquent le trajet de l'électron photosynthétique; les flèches pointillées (- - -) indiquent le trajet des protons. Les proportions stoechiométriques et géométriques ne sont pas respectées.

Avec l'oxydation de l'eau, le stock de protons s'enrichit à l'intérieur du lumen, et un gradient s'installe de part et d'autre de la membrane du thylakoïde. De plus, l'un des transporteurs de la chaîne intersystème, la plastoquinone, se déplace au sein de la membrane en transportant deux protons depuis le stroma jusque dans le lumen, pour

chaque électron transféré. Le potentiel chimique lié au gradient de protons est exploité par l'ATPase, qui transporte les protons du lumen vers le stroma en synthétisant de l'ATP (figure 4.2).

Une autre source d'ATP peut provenir de la réaction de Mehler. L'énergie des électrons réducteurs transférés de PSII à PSI peut être détournée de la synthèse du NADPH, et servir à réduire de l'oxygène dans le stroma. Comme les électrons initiaux proviennent de la formation d'oxygène au niveau du PSII, la réaction de Mehler aboutit à un bilan net pour O₂ égal à zéro (Falkowski et Raven 1997). En revanche, le gradient trans-thylakoïdal de proton, couplé à la phosphorylation d'ADP, est renforcé.

4.2.1.b Photoinhibition

Dans le milieu naturel, les organismes phytoplanctoniques proches de la surface subissent souvent une diminution de leur capacité photosynthétique aux environs de midi. Cette diminution est généralement due à l'inhibition de la photosynthèse par les hautes intensités lumineuses (Platt et al. 1980 ; Eilers et Peeters 1988 ; Zonneveld 1998 ; Macedo et al. 2002). Mais elle peut également être liée au rayonnement ultra-violet (Marwood et al. 2000, Shelly et al. 2003). Falkowski et Raven (1997) définissent la photoinhibition :

Photoinhibition is the light-dependent, slowly reversible retardation of photosynthesis, independent of any developmental change.

L'étape limitante de la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques entre PSII et PSI est la réduction de la plastoquinone mobile (PQ ; voir figure 4.2). Elle s'effectue sur une échelle de l'ordre de la microseconde, au lieu de la nanoseconde pour les premières étapes de la chaîne. Dans des conditions d'irradiance élevée, P₆₈₀ initie des transferts d'électron avec un turnover élevé. Comme la réduction de PQ présente un turnover environ mille fois moins grand, il peut arriver qu'un nouveau transfert soit initié par P₆₈₀, tandis que l'électron précédemment excité n'est pas encore transféré à PQ. Dans ce cas, le nouvel électron retourne sur une orbitale excitée de P₆₈₀, qui passe à l'état triplet. La durée de vie de cet état excité est longue, et la probabilité devient grande qu'une molécule d'oxygène désactive P₆₈₀ en passant à l'état excité singulet. L'oxygène singulet peut alors réagir avec des constituants du photosystème et endommager irréversiblement le centre réactionnel du PSII (Melis 1999). Ces photodommages rendent la plupart du temps le PSII inopérant, ce qui diminue la vitesse de production de NADPH.

Il existe des mécanismes enzymatiques de réparation des photosystèmes endommagés (Baroli et Melis 1998). Dans les conditions normales de luminosité et de température, les

dégâts causés à l'appareil photosynthétique sont efficacement contrés par la synthèse et le remplacement des unités endommagées. En revanche aux hautes intensités lumineuses, la vitesse de dégradation du photosystème peut submerger la capacité de réparation, et conduire à une inhibition temporaire de la photosynthèse. Cela se traduit par une diminution des activités liées à la photosynthèse, comme par exemple l'incorporation de carbone inorganique (Falkowski et Raven 1997).

Il est important de préciser que le processus de photoinhibition dépend du temps d'exposition de l'algue à la lumière (Melis 1999). Les facteurs qui augmentent la probabilité des photodommages sont une haute intensité lumineuse, de larges antennes chlorophylliennes, et une température suboptimale. Le principal facteur qui diminue la performance du cycle de réparation est une température suboptimale.

4.2.1.c Cycle de Calvin

Le cycle de réduction du carbone photosynthétique (cycle de Calvin-Benson-Bassham) est le cycle de réactions au cours duquel la fixation nette du carbone photosynthétique aboutit à la formation des précurseurs organiques (pour les étapes du cycle voir Falkowski et Raven 1997 ; Geider et MacIntyre 2002). Les électrons réducteurs (sous forme de NADPH) et l'énergie (sous forme d'ATP) produits par la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques sont consommés au cours du cycle de Calvin, comme résumé par l'équation 4.2.

A l'heure actuelle, il est difficile d'identifier le mécanisme qui limite la vitesse de photosynthèse aux irradiances élevées (P_{max}). Ce mécanisme peut résider dans le cycle de Calvin (Orellana et Perry 1992). Au coeur du cycle de Calvin, on trouve l'enzyme RUBISCO (RuBP Carboxylase Oxygénase) qui catalyse l'étape de fixation du carbone sur le ribulose 1,5-bisphosphate (RuBP), lequel est régénéré plus tard dans le cycle. Aux faibles concentrations en CO₂, RuBP est en concentration saturante et la vitesse de fixation du CO₂ (réaction au noir) est limitée par l'activité de RUBISCO (i.e. consommation de RuBP). Cependant, pour des concentrations élevées en CO₂, la fixation de CO₂ est limitée par la régénération de RuBP (Ruuska et al. 1999). D'un autre côté, toujours pour des concentrations élevées en CO₂, des études montrent que les variations de P_{max} peuvent parfois être mieux corrélées avec des changements dans la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques, plutôt qu'avec l'activité de RUBISCO (voir Geider et MacIntyre 2002).

4.2.1.d Photorespiration

Comme son nom l'indique, RUBISCO peut également catalyser l'oxygénéation de RuBP: c'est ce qu'on appelle la photorespiration. La photorespiration est une séquence spécifique de réactions qui commence avec la formation de phosphoglycolate via l'oxygénéation de RuBP au site actif de RUBISCO, et qui peut conduire à l'excrétion de glycolate (Geider et MacIntyre 2002). Au lieu d'être carboxylé, RuBP est oxydé par RUBISCO, avec au final une diminution du rendement de la photosynthèse. Chez certaines espèces de phytoplancton, la photorespiration est responsable d'une diminution de l'incorporation de carbone d'environ 20% à l'air et 30% sous O₂, en comparaison d'incorporations faites sous N₂ (Morris et Glover 1981). Bien que crucial chez les plantes vasculaires qui sont au contact de l'air, ce mécanisme est considéré comme faible en milieu aquatique (Falkowski et Raven 1997). En particulier, la photorespiration devient négligeable lorsque le CO₂ est concentré aux abords des sites actifs de RUBISCO grâce aux mécanismes de concentration du carbone (Moroney 2002).

4.2.2 Photoacclimatation du phytoplancton

Raven et al. (2000) distinguent trois types d'accommodations du phytoplancton au changement des conditions lumineuses: la photorégulation, la photoacclimatation et la photoadaptation. La photorégulation est issue d'une réorientation des ressources énergétiques internes de la cellule qui n'implique pas de bris de structure ni de biosynthèse. La photoacclimatation est le résultat d'un changement dans le nombre ou la taille des photosystèmes impliquant la biosynthèse de molécules protéines et pigmentaires, mais sans altération du patrimoine génétique. Enfin, la photoadaptation est la réponse génétique au changement de lumière dans l'environnement.

Dans les courbes PE, la photoacclimatation du phytoplancton est caractérisée par un changement des paramètres photosynthétiques α^B et/ou P_{max}^B ¹. Ce phénomène est observé au cours d'expériences de laboratoire (Post et al. 1985 ; Prézelin 1992), et d'expériences en condition *in situ* simulée (SIS: "simulated *in situ*" experiments; Harding et al. 1986 ; Lizon et Lagadeuc 1998). Des modèles tentent de relier le changement des paramètres PE à la structure et au fonctionnement de la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques (Geider et al. 1996 ; Zonneveld 1997 ; Kana et al. 1997). En effet, la photoacclimatation est essentiellement déterminée par la régulation de la synthèse des

¹ Pour une discussion récente sur la variation des paramètres PE, voir Behrenfeld et al. (2004).

complexes pigments-protéines situés dans les antennes des photosystèmes. Des études suggèrent que le "photo-détecteur" qui régit le niveau pigmentaire est la balance redox du pool de plastoquinone (Maxwell et al. 1995 ; Masuda et al. 2002). L'efficacité de la chaîne intersystème entre PSII et PSI, et en particulier l'état redox de ses composants, joue donc un rôle central dans la photoacclimatation ainsi que dans la photoinhibition (voir plus haut). Les interactions entre les deux mécanismes font d'ailleurs l'objet de recherches (Kana et al. 1997 ; Zonneveld 1998 ; Han 2002). L'idée n'est pas neuve de rassembler les deux mécanismes dans un seul modèle, mais à notre connaissance aucune étude ne fait le lien entre un tel modèle et l'incorporation de ^{14}C en incubateur comme nous le faisons au chapitre 5.

Dans des milieux bien mélangés verticalement où l'alternance lumière-obscurité est rapide, il est très difficile de déterminer la mesure dans laquelle la photoacclimatation prend place au sein de la colonne d'eau. Ce point précis est abordé au chapitre 7.

4.2.3 Respiration algale

La respiration est la somme des processus qui consomment O_2 et produisent CO_2 . Au cours de la respiration algale, l'oxydation du carbone organique dans les mitochondries fournit des substrats nécessaires à la croissance cellulaire (Falkowski et Raven 1997).

Chez certaines espèces de diatomées, on observe une vitesse de respiration deux fois plus élevée à la lumière qu'à l'obscurité (Weger et al. 1989). L'augmentation de la respiration lors de la photosynthèse est expliquée par le fait que la biosynthèse des éléments structuraux et fonctionnels, garantissant la croissance de la cellule, nécessite une augmentation de l'activité mitochondriale. Cette activité pourrait se faire au dépend d'une partie des produits de réserve constitués au cours de la photosynthèse, comme proposé dans le modèle de Lancelot et al. (2000).

La respiration algale peut être exprimée comme la somme de deux termes: un terme de maintenance et un terme de coût biosynthétique, ou terme de croissance (Langdon 1993, Lewitus et Kana 1995). Le premier terme reflète la respiration de survie de la cellule algale. Lorsqu'il est rapporté à la biomasse, ce terme de maintenance est constant et ne dépend ni des variations de température ni de la longueur de la photopériode (Verity 1982). Toutefois, il varie fort d'une espèce à l'autre (Langdon 1988). L'expérience montre que le deuxième terme est dépendant de la vitesse de croissance de la cellule (Falkowski et Raven 1997).

4.2.4 Excrétion

L'excrétion phytoplanctonique est définie comme le relâchage de carbone organique dissous (DOC) extracellulaire au cours de la photosynthèse (Malinsky-Rushansky et Legrand 1996). Ces substances, qui peuvent représenter une fraction importante de la production chez certaines espèces, constituent une source d'énergie facilement accessible pour les microorganismes, en particulier les bactéries hétérotrophes (Brock et Clyne 1984 ; Otero et Vincenzini 2004).

Mague et al. (1980) proposent un schéma explicatif du processus d'excrétion dans lequel la production de DOC extracellulaire est directement liée à la concentration du DOC intracellulaire, et à la photosynthèse. Cette conception de la dynamique intracellulaire est proche de celle du modèle de Lancelot et al. (2000), où l'excrétion est proportionnelle à la vitesse de photosynthèse brute. Il faut également noter que la photorespiration, quand elle prend place, est responsable de l'excrétion de glycolate (voir plus haut).

Par ailleurs, certaines espèces de phytoplancton, entre autres parmi les cyanobactéries, sont connues pour produire des substances polymériques extracellulaires (EPS) sous la forme de capsules attachées à la cellule, ou de colloïdes dans le milieu (Engel et al. 2002; Otero et Vincenzini 2004). Dans le cas de la cyanobactérie *Nostoc*, les EPS sont uniquement synthétisés lorsque le montant de carbone fixé par photosynthèse est supérieur à la quantité d'azote disponible. Les EPS constituerait alors un puit pour le carbone photosynthétique excédentaire en cas d'insuffisance d'azote.

Chapitre 5

Kinetics of ^{14}C incorporation by phytoplankton in a light gradient

Desmit X. & Vanderborgh J.P.

Submitted to Marine Ecology Progress Series

Résumé

Depuis plus de cinquante ans, la technique du ^{14}C a été largement utilisée pour mesurer la production phytoplanctonique des systèmes naturels. Cependant, les résultats issus de cette méthode peuvent être difficiles à interpréter, car la fixation du carbone est modulée par des mécanismes dépendant du temps et de la lumière: la photoacclimation, la photoinhibition, et la respiration algale. Pour étudier cette dépendance, un modèle de circulation du carbone dans les cellules phytoplanctoniques a été développé en fonction de l'irradiance et du temps. Quatre processus décrivent les dynamiques du ^{12}C , du ^{14}C et de la chlorophylle *a* dans un système fermé et mélangé: l'incorporation de carbone, le rejet de carbone (par la respiration algale), la synthèse de nouvelle chlorophylle *a* (modulée par la photoacclimation), et la désactivation de la chlorophylle *a* (contrôlée par la photoinhibition). Le modèle est comparé aux résultats expérimentaux d'incorporation de ^{14}C pour différentes durées d'incubation et pour différentes irradiances. On montre que la synthèse et la désactivation de la chlorophylle *a* sont équilibrées à une irradiance critique (E_c), qui est centrale dans la compréhension de la dynamique d'incorporation du ^{12}C (et donc du ^{14}C) par le phytoplancton. Le rapport isotopique cellulaire, qui est fortement influencé par l'incorporation et le rejet de carbone, détermine avec E_c les conditions dans lesquelles la production phytoplanctonique nette peut être évaluée à l'aide de la technique du ^{14}C .

Abstract

For more than fifty years, the ^{14}C technique has been extensively used to measure phytoplankton production in natural systems. However, results obtained with this method may be difficult to interpret, because carbon fixation is affected by light- and time-dependent mechanisms such as photoacclimation, photoinhibition and algal respiration. To explore this dependence, a model of carbon flow through phytoplankton cells has been developed as a function of irradiance and time. Four processes are considered to describe ^{12}C , ^{14}C and chlorophyll *a* dynamics in a closed, mixed system: carbon incorporation, carbon release (by algal respiration), new chlorophyll *a* synthesis (modulated by photoacclimation), and chlorophyll *a* disabling (driven by photoinhibition). The model is compared with the experimental results of ^{14}C incorporations at different incubation lengths and under various light irradiances. It is shown that chlorophyll *a* synthesis and disabling are balanced at a critical irradiance (E_c), which is central in understanding the dynamics of ^{12}C (and thus ^{14}C) incorporation by phytoplankton cells. The cellular isotopic ratio, which is strongly influenced by both incorporation and release of carbon, determines, together with E_c , the conditions under which the net phytoplankton production may be assessed by means of the ^{14}C technique.

5.1 Introduction

Since it has been adapted by Steemann Nielsen (1952), the measurement of ^{14}C uptake has been the most popular method to estimate phytoplankton production in natural systems. This technique is still widely used because it is relatively easy and safe to handle, and it is the most sensitive method available (Marra 2002). Provided a number of assumptions, a model of carbon flow through phytoplankton cells may give an insight into the major mechanisms responsible for the photosynthetic carbon fixation (Williams 1993b). In most studies, the ^{14}C uptake by phytoplankton is only written as a light-dependent process using the equations proposed by Jassby and Platt (1976) or Eilers and Peeters (1988), for example. Most of the available information about the photosynthetic parameters, which describe the photosynthesis-light response curve, is derived from this approach. However, numerous critical comments have accompanied the use of the technique (see for example Peterson 1980, Dring and Jewson 1982, Bender et al. 1987, Williams and Lefèvre 1996, Banse 2002). Especially, the difficulties to interpret results from ^{14}C measurements have been pointed out, primarily because the carbon fixation is affected by complex mechanisms, such as algal respiration (Weger et al. 1989, Williams 1993b, Langdon 1993, Marra 2002), photoacclimation (Harding et al. 1986, Geider et al. 1996, Zonneveld 1997, MacIntyre et al. 2002), and photoinhibition (Platt et al. 1980, Zonneveld 1998, Melis 1999, Han 2002). Moreover, the uptake rate of ^{12}C and ^{14}C should be considered as separate time-dependent functions, "because of the pathways of fixed carbon within the cell, and the distribution of ^{14}C between the cell and the environment" (Marra 2002). Kinetic models of the uptake and recycling of both ^{12}C and ^{14}C have already been proposed (Hobson et al. 1976, Dring and Jewson 1982, Williams 1993b). However, these models do not consider light-dependent processes such as photoacclimation and photoinhibition, which induce changes in pigment concentration that influence photosynthesis (Post et al. 1985, Kana et al. 1997), and which may in addition be affected by one another (Zonneveld 1998). These light- and time-dependent processes must be considered in order to understand results from ^{14}C measurements either in the laboratory (Lewis and Smith 1983, Macedo et al. 2002), or in simulated in situ experiments (Harding et al. 1986, Lizon and Lagadeuc 1998).

In this paper, results from ^{14}C -uptake experiments under various irradiances and incubation lengths are interpreted using a model of carbon fluxes through phytoplankton cells. This model takes into account light- and/or time-dependent physiological mechanisms : photosynthesis, photoinhibition, photoacclimation, algal respiration. It

allows to explain some features of the photosynthetic-light response curve that are either ignored or empirically treated by standard approaches.

5.2 Material and methods

Our experiment was conducted in April 2002 with water from the freshwater reach of the tidal Scheldt estuary (Belgium), at km 125 inland from the coast of the North Sea. The freshwater part of the estuary is a turbid and nutrient-rich environment, with suspended solids concentration varying between 50 and 200 mg.L⁻¹ and nutrients concentrations of about 600 µmol-N.L⁻¹, 20 µmol-P.L⁻¹, and 250 µmol-Si.L⁻¹ in spring. The natural assemblage of phytoplankton is dominated by diatoms (Muylaert and Sabbe 1999, Muylaert et al. 2000).

The water was filtered through a 63 mesh net to eliminate zooplankton. A 100 ml sample was then filtered on glass-fiber filter (Whatman GF/F) to analyze initial chlorophyll *a* concentration by fluorometry following the JGOFS Protocol (IOC-SCOR 1994). Dissolved inorganic carbon was estimated at 6.27 mmol.L⁻¹, by in situ pH-metry, total alkalinity, and temperature measurements. A solution of H $^{14}\text{CO}_3^-$ was spiked into the main sample and an isotopic ratio of 6.29 10⁻⁵ mol $^{14}\text{C}.$ (mol ^{12}C)⁻¹ was obtained. From this sample, 32 subsamples of 50 ml were withdrawn and transferred into Corning flasks for the measurement of ^{14}C uptake by phytoplankton. Four additional subsamples were used for determination of the dark ^{14}C uptake. The ^{14}C -uptake experiment was performed in a four ranks incubator fixed on a shaking plate, each rank fitted with eight aligned flasks. The first flask was directly exposed to the light source (Sylvania Daylight F 8W/D) and the light intensity decreased from the first to the eighth flask in each rank. The irradiance was measured in the flasks using a quantum scalar irradiance meter (Biospherical Instruments QSL 2100). Differences in light profiles between each rank were minimal. After one hour of incubation, the eight flasks of the first rank were filtered on glass-fiber filters, according to the JGOFS protocol (IOC-SCOR 1994). Filters were acidified with 100 µL of HCl 0.1 mol.L⁻¹ before being transferred to scintillation vials. The other ranks were filtered after respectively 5, 18, and 25 hours of light exposition. The ^{14}C incorporation was analysed in a scintillation counter after addition of Ready Safe®. Each result may thus be referenced with respect to a unique couple of parameters (incubation time, irradiance). From these results, we can thus extract either four photosynthesis-light response curves (at increasing time), or eight kinetics of ^{14}C uptake (at increasing irradiance). The dark carbon fixation rate by chemoautotrophs (essentially nitrifying

bacteria) was also measured. It exhibited a constant value during the whole experiment ($1.08 \mu\text{g C} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

5.3 Kinetics of ^{14}C incorporation

Classically, the results from ^{14}C -incorporation experiments under constant light are used to estimate the biomass-specific phytoplankton production (P^B), usually expressed in units of $\mu\text{gC} \cdot \mu\text{gChlorophylla}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Under a constant irradiance (E), P^B may be defined by equation 1, and is estimated with equation 2:

$$P^B = B^{-1} \cdot \Delta^{12}\text{C}/\Delta t \quad (1)$$

$$P^B = C_{\text{iso}}^{-1} \cdot B^{-1} \cdot \gamma \cdot \Delta^{14}\text{C}/\Delta t \quad (2)$$

where $\Delta^{12}\text{C}$ and $\Delta^{14}\text{C}$ are the quantities of respectively ^{12}C and ^{14}C incorporated by phytoplankton after a time period Δt , C_{iso} is the isotopic ratio of carbon ($^{14}\text{C}:^{12}\text{C}$) in the environment outside the cell, and γ is the factor of isotopic discrimination for photosynthesis ($\gamma = 1.05$ according to IOC-SCOR 1994). Equation 2 is only valid if the quantity of ^{14}C incorporated by cells under a constant irradiance varies linearly with time, so that P^B remains constant. Though it is often considered as implicit, the linear time-course of ^{14}C incorporation is a crucial hypothesis to interpret ^{14}C experiments with equation 2.

However, authors have shown that the incorporation of ^{14}C by cells does not always occur at a constant rate, even under constant light (Marra et al. 1988, Williams 1993b). Among the possible origins for this deviation, the process of algal respiration causes ^{14}C release to the environment. At the beginning of the incubation, ^{14}C uptake dominates over ^{14}C release. As the cellular stock of ^{14}C increases with time, the ^{14}C uptake is progressively counteracted by ^{14}C respiration. The resulting ^{14}C incorporation rate decreases with time towards a constant value. The stabilization is reached when the cellular isotopic ratio ($^{14}\text{C}:^{12}\text{C}$) eventually becomes equal to C_{iso} . Considering only the algal respiration, the relation between incorporated ^{14}C and time should thus be curvilinear, and equation 2 should actually not be applied.

On the other hand, experimental results show a more complex pattern (figure 1), indicating that the algal respiration is not the only source of non-linear behaviour in ^{14}C -incorporation experiments : depending on the light intensity, the rate of ^{14}C incorporation

increases with time, is constant, or decreases towards zero. This suggests the existence of antagonistic interactions between processes, that are both light- and time-dependent, such as photoinhibition and photoacclimation. Under high irradiances, photoinhibition is responsible for the temporary inactivation of PSII reaction centers (Melis 1999). The inactivation induces a decrease in the rate of photosynthetic electron transfert and in the rate of carbon uptake. This decrease is not only a function of irradiance but is also a function of time (Baroli and Melis 1998). Photoacclimation also plays a role in photosynthesis, by changing the chlorophyll *a* content in the cell in response to a changing irradiance (MacIntyre et al. 2002). As a consequence, the photosynthetic response to irradiance may vary, and the rate of carbon reduction may be altered.

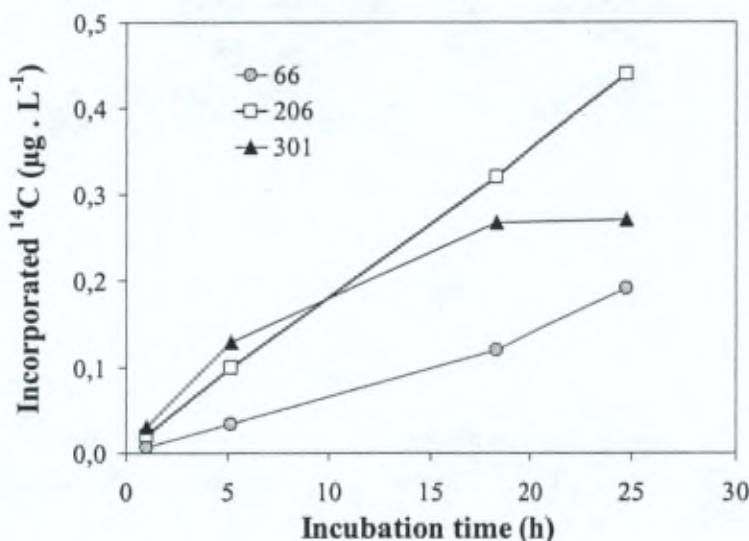


Figure 1 : Quantity of ^{14}C incorporated as a function of time and under three different irradiances.

5.4 Modelling hypothesis

We have thus shown that the shape of the ^{14}C vs time curve is light- and time-dependent. To further explore the complexity of this dependence a model of carbon fixation by phytoplankton as a function of two independent variables (irradiance and time) has been developed. The purpose of this model is to improve the classical approach based on equations (1) and (2), by taking into account time- and light-dependent processes, as well as algal respiration.

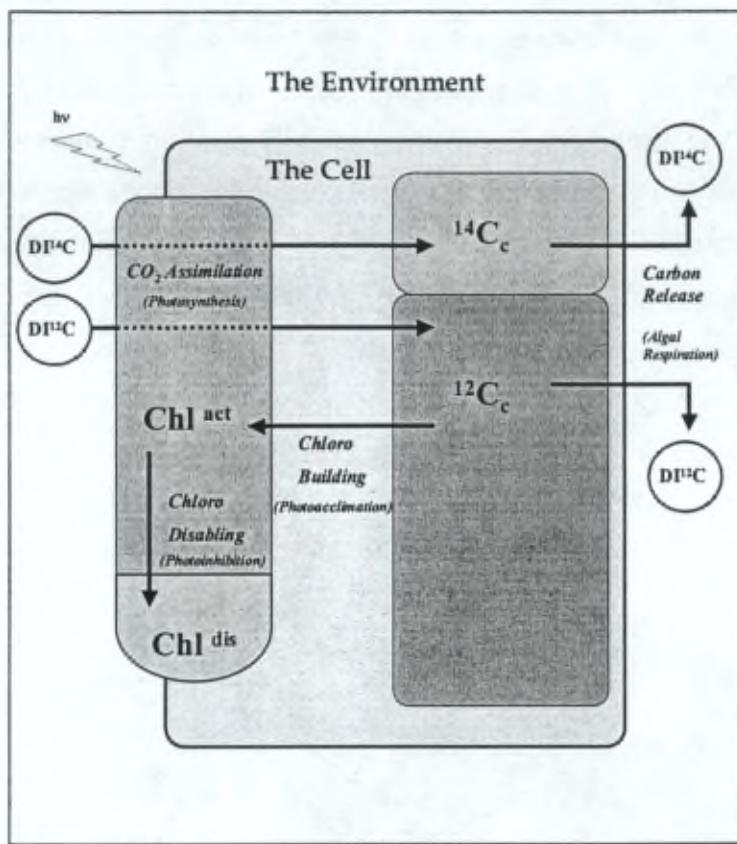


Figure 2 : Schematic representation of a phytoplanktonic cell exposed to light. Four of the variables ^{12}Cc , ^{14}Cc , Chl^{act} , and Chl^{dis} are illustrated as boxes (stocks). Four processes are illustrated as arrows (fluxes): carbon assimilation, carbon release, chlorophyll *a* synthesis, and chlorophyll *a* disabling.

The system of differential equations that underlies our model is based on the following representation of algal photosynthesis. When carbon is incorporated into the cell, it is assumed to be immediately fixed as organic precursors (i.e. photosynthates). In previous phytoplankton models (Lancelot et al. 1991, Geider et al. 1996), those precursors are allocated either to chlorophyll *a* synthesis, or to the biosynthesis of proteins and structures, or used to feed the energy storage reserve. In the present paper, we only consider two distinct pools of ^{12}C , i.e. the carbon that is contained into chlorophyll *a* molecules, and the remainder of cellular carbon (^{12}Cc) that constitutes all but the chlorophyll *a* (see figure 2). This distinction is necessary to model chlorophyll *a* synthesis, which is central to both photoacclimation and photoinhibition processes. The sum of the two carbon pools is equal to the total ^{12}C content of the cell ($^{12}\text{C}_{\text{tot}}$). We further

make the approximation that $^{12}\text{C}_{\text{tot}}$ is equal to C_{tot} , meaning that the ^{14}C content of the cell is always negligible in comparison to ^{12}C (see further the discussion of results on the cellular isotopic ratio). The initial $^{12}\text{C}_{\text{tot}}$ is estimated on the basis of the initial chlorophyll *a* concentration, assuming a chlorophyll *a*:carbon ratio equal to 0.02 g chlorophyll *a*.(g C) $^{-1}$ at the beginning of the experiment. Basically, we assume that a part of the newly incorporated ^{12}C is continuously allocated to the synthesis of new chlorophyll *a* molecules (see figure 2). This allocation is controlled by a coefficient (*k*) of carbon allocation for chlorophyll *a* synthesis, which depends on the irradiance intensity. Since photoacclimation is theoretically determined by regulation of pigments synthesis (Kana et al. 1997), the fluctuation of *k* with light is seen, in this paper, to drive photoacclimation.

On the other hand, we consider photoinhibition to be the only loss term in the chlorophyll *a* dynamics. We assume that the observable effect of photoinhibition is the result of both damage and repair processes on the PSII reaction center (Melis 1999). In addition, we hypothesize that, when a PSII reaction center is disabled by photoinhibition, the whole chlorophyll *a* antennae of this PSII may be considered as inactivated as well. In other words, this part of chlorophyll *a* ceases to be operational for photosynthesis, because the electron-transfer machinery is unusable in this PSII. From this simplistic point of view, the net result of photo-damages and repair processes affecting the photosynthetic units is to generate a disabled fraction of the total chlorophyll *a* content. On the other hand, any photosynthetically inactive chlorophyll *a* molecule is expected to remain in the cell, and to contribute to a pool of measurable but photosynthetically useless chlorophyll *a* molecules. Any new chlorophyll *a* molecule, synthesized by the cell, is considered to be photosynthetically active. Starting from these principles, it is possible to write kinetic equations describing the time dependence of both photosynthetically active chlorophyll *a* (Chl^{act}), and photosynthetically inactive chlorophyll *a* (Chl^{dis}). The total pool of chlorophyll *a* (i.e. the measured concentration Chl^{tot}) is the sum of the active and disabled fractions of chlorophyll *a*.

The algal respiration may be modelled as the sum of two terms: a maintenance term and a growth term (Weger et al. 1989, Langdon 1993). We will show later that, under the condition of continuous light exposition met in an incubator, the contribution of maintenance respiration is low in comparison with the growth respiration. It has therefore been neglected here. Growth respiration is taken as the product of a constant R_g by the growth rate $d^{12}\text{Cc}/dt$.

Looking now at the fate of ^{14}C , we make the assumption that it is merely a kinetic tracer, that does not influence the overall mass budget of cellular carbon ($C_{\text{tot}} = ^{12}\text{C}_{\text{tot}}$). Nevertheless, describing the ^{14}C uptake requires the writing of an independent ^{14}C mass budget. Strictly speaking, the ^{14}C book-keeping follows that of ^{12}C . As a consequence, we should normally model a pool of chlorophyll *a* containing one or several ^{14}C atoms. We chose to avoid this inextricably complex description and to neglect the contribution of ^{14}C in the synthesis of new chlorophyll *a* molecules. This assumption is further justified in the discussion part. Following the same subscript convention as for ^{12}C , we thus write that $^{14}\text{C}_{\text{tot}} = ^{14}\text{Cc}$. The release of ^{14}C is assumed to be only due to the algal respiration of ^{14}Cc , i.e. the algal respiration of ^{12}Cc multiplied by the varying cellular isotopic ratio ($^{14}\text{Cc}/^{12}\text{Cc}$). However, a part of ^{14}C release may be due to excretion. We assume that the possible contribution of excretion is included into the loss term due to respiration.

5.5 Model equations

According to the above hypothesis, the model equations for ^{12}C , ^{14}C and chlorophyll *a* dynamics at constant irradiance in a closed, mixed system are:

$$\frac{d\text{Chl}^{\text{act}}}{dt} = \varepsilon \cdot k \cdot d^{12}\text{Cc}/dt - b \cdot E \cdot \text{Chl}^{\text{act}} \quad (3)$$

$$\frac{d\text{Chl}^{\text{dis}}}{dt} = b \cdot E \cdot \text{Chl}^{\text{act}} \quad (4)$$

$$\frac{d^{12}\text{Cc}}{dt} = \text{Chl}^{\text{act}} \cdot \text{SCAR} - (k + R_g) \cdot d^{12}\text{Cc}/dt \quad (5)$$

$$\frac{d^{14}\text{Cc}}{dt} = C_{\text{iso}} \cdot \text{Chl}^{\text{act}} \cdot \text{SCAR} - \frac{^{14}\text{Cc}}{^{12}\text{Cc}} \cdot R_g \cdot d^{12}\text{Cc}/dt \quad (6)$$

The definition and units of the variables and parameters used are detailed in table 1. Note that, in order to simplify the writing of the equations, we consider that the isotopic discrimination is negligible ($\gamma = 1$). We also assume that the isotopic ratio of the solution (C_{iso}) is constant at the experimental time-scale. The first term in equation 3 is the rate of new chlorophyll *a* synthesis, which is both time-dependent (through the variation rate of ^{12}Cc) and light-dependent (through k , see above). The second negative term is the rate of Chl^{act} disabling due to photoinhibition. This rate is proportional to both Chl^{act} and E . The index of photoinhibition, b , is assumed to be constant at all light intensities and at all time.

Notation	Independent variables	Value	Units
E t	Irradiance intensity (PAR) Time	Variable Variable	$\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ h
Variables			
Chl ^{act}	Active chlorophyll a concentration	f(t,E)	$\mu\text{g chlorophyll a} \cdot \text{L}^{-1}$
Chl ^{dis}	Disabled chlorophyll a concentration (by photoinhibition)	f(t,E)	$\mu\text{g chlorophyll a} \cdot \text{L}^{-1}$
Chl ^{tot}	Total chlorophyll a concentration	f(t,E)	$\mu\text{g chlorophyll a} \cdot \text{L}^{-1}$
^{12}Cc	Cellular ^{12}C concentration (excepted the ^{12}C in Chl ^{tot})	f(t,E)	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
^{14}Cc	Cellular ^{14}C concentration	f(t,E)	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
SCAR	Specific inorganic Carbon Assimilation Rate	f(E)	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \mu\text{g Chl}^{\text{act}} \cdot \text{h}^{-1}$
k	Coefficient of carbon allocation to chlorophyll a synthesis	f(E)	none
s	= 1 + R _g + k	f(E)	none
Constants			
$^{12}\text{Cc}^*$	Initial cellular ^{12}C concentration (excepted the ^{12}C in Chl ^{tot})	1135.94	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
Chl [*]	Initial chlorophyll a concentration	23.06	$\mu\text{g chlorophyll a} \cdot \text{L}^{-1}$
θ^*	Initial chlorophyll a:carbon ratio	0.02	$\text{g chlorophyll a} \cdot \text{g C}^{-1}$
C _{iso}	Isotopic ratio of carbon in the environment of the cell	$6.29 \cdot 10^{-5}$	$\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$
ε	Chlorophyll to carbon ratio in the chlorophyll a molecule (in mass)	1.352	$\text{g chlorophyll a} \cdot \text{g C}^{-1}$
b	Index of photoinhibition	0.001	$\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot (\text{h} \cdot \mu\text{E})^{-1}$
R _g	Constant for growth respiration	0.31	none
k ₁	First constant for coefficient of C allocation to Chl ^{act}	0.0379	none
k ₂	Second constant for coefficient of C allocation to Chl ^{act}	0.0036	$(\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$
λ	Chl ^{act} -specific efficiency of carbon incorporation	0.059	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot (\mu\text{g Chl}^{\text{act}})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ $(\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$

Table 1 : Symbols, definitions and typical units of the variables and constants in the model

Equation 4 reproduces this term with opposite sign. In equation 5, the first term is the rate of ^{12}C assimilation due to photosynthesis. SCAR stands for "Specific Carbon Assimilation Rate". It is expressed per mass of ^{12}C incorporated per unit mass of active chlorophyll a and unit time, and is therefore a function of light intensity only. The negative term in equation 5 is the rate of ^{12}C loss due respectively to new chlorophyll a synthesis and to growth respiration. Equation 6 is built as equation 5, but it takes into account the isotopic ratio of the solution and of the cell, and neglects the contribution of ^{14}C to the synthesis of new chlorophyll a molecules. When C_{iso} is considered as a

constant, the system of differential equations can be solved analytically (see table 2, equations 7 to 10).

$$\text{Chl}^{\text{act}}(t) = \text{Chl}^o \cdot \exp(A.t/s) \quad (7)$$

$$^{12}\text{Cc}(t) = ^{12}\text{Cc}^o \cdot W \quad (8)$$

$$^{14}\text{Cc}(t) = ^{12}\text{Cc}^o \cdot W \cdot C_{\text{iso}} \cdot s \cdot (1+R_g)^{-1} \cdot (1 - W^{-1-R_g}) \quad (9)$$

$$\text{Chl}^{\text{tot}}(t) = \text{Chl}^o \cdot A^{-1} \cdot (\epsilon \cdot k \cdot \text{SCAR} \cdot \exp(A.t/s) - s.b.E) \quad (10)$$

$$d\text{Chl}^{\text{act}}/dt = \text{Chl}^o \cdot A \cdot s^{-1} \cdot \exp(A.t/s) \quad (11)$$

$$d^{12}\text{Cc}/dt = \text{Chl}^o \cdot \text{SCAR} \cdot s^{-1} \cdot \exp(A.t/s) \quad (12)$$

$$d^{14}\text{Cc}/dt = \text{Chl}^o \cdot \text{SCAR} \cdot C_{\text{iso}} \cdot (1 + R_g)^{-1} \cdot \exp(A.t/s) \cdot (1 + R_g \cdot W^{-1-R_g}) \quad (13)$$

$$A = \epsilon \cdot k \cdot \text{SCAR} - s \cdot b \cdot E \quad (14)$$

$$B = \text{Chl}^o \cdot \text{SCAR} / (^{12}\text{Cc}^o \cdot A) \quad (15)$$

$$W = 1 + B \cdot (\exp(A.t/s) - 1) \quad (16)$$

Table 2 : Analytical solutions from the system of differential kinetic equations

5.6 Results and discussion

As stated above, ^{14}C -uptake experiments have been performed at 8 irradiances and 4 incubation lengths. Model results based on the experimental data are presented as 8 kinetic curves. Each curve corresponds to one particular irradiance (figure 3 a and b). An interesting feature is that the curves exhibit increasing rates of ^{14}C fixation with increasing irradiance, until a critical value is reached around $200 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (figure 3 a). Beyond this critical irradiance, the ^{14}Cc variation rate still increases at the beginning of the incubation, but becomes equal to zero after a few hours (figure 3 b). According to the

model equations 5 and 6, this is only possible when SCAR or Chl^{act} are equal to zero. Since SCAR, by definition, is only equal to zero at null irradiance, Chl^{act} must be equal to zero as a consequence of photoinhibition.

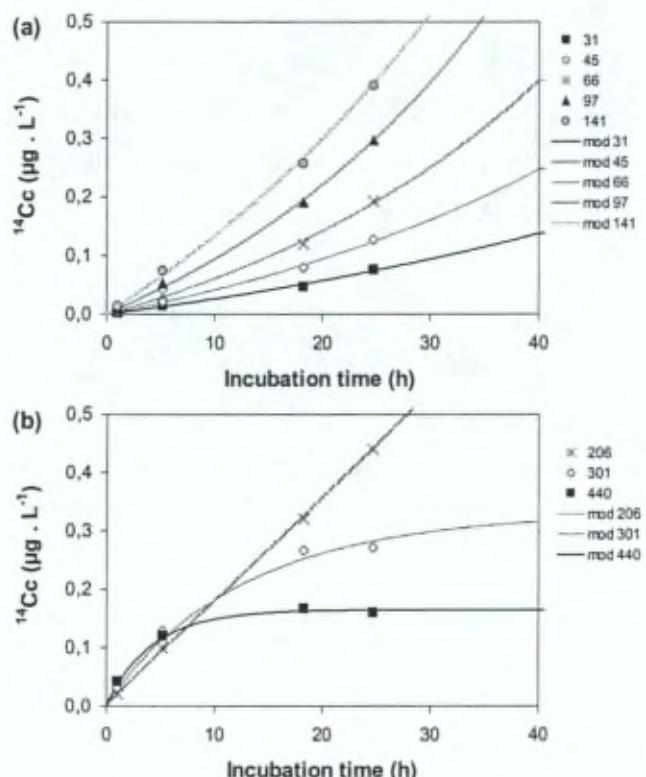


Figure 3 : Variation of cellular ^{14}C as a function of time and under eight irradiances: (a) from 31 to 141 $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.s^{-1}$, and (b) from 206 to 440 $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.s^{-1}$. Dots represent experimental results, and lines are the model results for the corresponding irradiances.

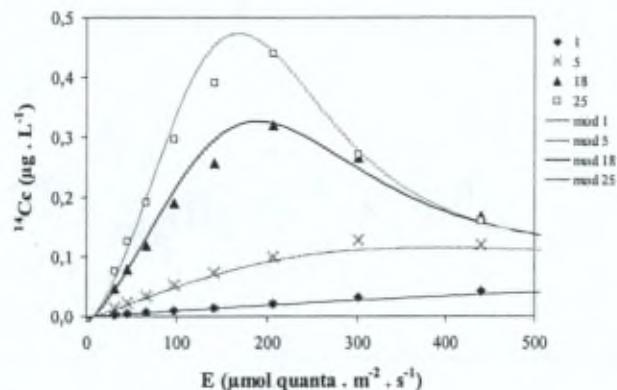


Figure 4 : Variation of cellular ^{14}C as a function of irradiance and at four incubation lengths. Dots represent experimental results (same as in figure 3), and lines are the model results.

The time-dependence of photoinhibition is clearly noticeable in the evolution of ^{14}Cc with irradiance: in figure 4, the same experimental results are now represented as a function of irradiance for various incubation lengths. Due to photoinhibition, a maximum value appears in the ^{14}Cc vs E curves. With increasing incubation length, this maximum undergoes a progressive shift towards lower irradiances.

To fit the experimental ^{14}C data with our model, we adapted the values of SCAR and k for each irradiance. Interestingly, the resulting variations of SCAR and k with irradiance exhibit consistent evolutions. The light dependence of SCAR is almost linear and is very close to the P^B - E relation (figure 5 a), when P^B is estimated after one hour of incubation

using equation 2. This similarity may be interpreted as follows: for very short incubation lengths ($\leq 1\text{h}$), the isotopic ratio in the cell is still close to zero and Chl^{act} is still close to the initial chlorophyll *a* concentration (Chl_0). Equation 6 can thus be written as:

$$\frac{d^{14}\text{Cc}}{dt} = C_{\text{iso}} \cdot \text{Chl}_0 \cdot \text{SCAR} \quad (17)$$

which is equivalent to equation 2 as long as $P^B = \text{SCAR}$. Note that, for a very short length of incubation, when neither respiration of ^{14}C , nor photoinhibition, nor photoacclimation has occurred significantly, P^B may also be assimilated to the gross phytoplankton production (GPP), as pointed out by previous authors (Williams 1993a, Marra 2002).

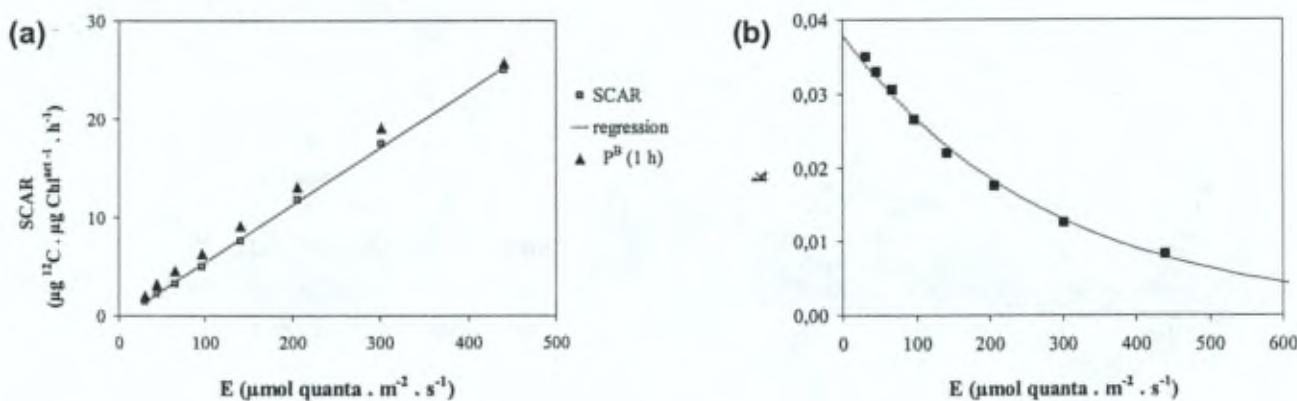


Figure 5 : (a) Representation of SCAR as a function of irradiance. Also, the biomass-specific production P^B is presented, as estimated after one hour, to show the similarity with SCAR. (b) Exponential decrease of k with irradiance. This light-dependence of k is associated with photoacclimation mechanisms.

Equation 5 can be rewritten as :

$$\text{SCAR} = (1 + R_g + k) \cdot (\text{Chl}^{\text{act}})^{-1} \cdot \frac{d^{12}\text{Cc}}{dt} \quad (18)$$

Since SCAR and k remain constant at a given irradiance, this equation shows that Chl^{act} and $d^{12}\text{Cc}/dt$ must vary proportionally to one another.

The rate of inorganic carbon incorporation is known to be saturated under high irradiances. As a consequence, the light dependence of SCAR should normally be described with a classical hyperbolic or exponential formulation, such as the ones proposed by Jassby and Platt (1976). In the present paper, however, we model SCAR as a

linear function of light (equation 19), because the plateau-value is not observable at the experimental light intensities.

$$\text{SCAR} = \lambda \cdot E - 0.5 \quad (19)$$

where we define λ as the specific efficiency of carbon incorporation by active chlorophyll *a* (the term 0.5 fits the zero intercept of the SCAR vs E regression of figure 5 a).

As stated above, the coefficient of carbon allocation for chlorophyll *a* synthesis is also light dependent (figure 5 b) and has been adjusted using an exponentially decreasing function.

$$k = k_1 \cdot \exp(-k_2 \cdot E) \quad (20)$$

This formulation corresponds to the hypothesis that, at high irradiance, the synthesis of new chlorophyll *a* becomes repressed by the mechanism of photoacclimation (MacIntyre et al. 2002). In the same conditions, photoinhibition disables photosynthetically-active chlorophyll *a*. In this context, the repression of chlorophyll *a* synthesis may appear as a poor strategy for the cells. However, according to Geider et al. (1997), the down regulation of pigment content occurs as a means of reducing photoinhibitory damage. Our hypothesis is that the disabled chlorophyll *a* molecules are still present in the antennae of the damaged PSII. There is thus no need for the cell to synthesize more chlorophyll *a* molecules at high irradiances, but instead, the cell must replace photo-damaged PS II structures such as the D1 protein (Melis 1999). From this point of view, the photoacclimation mechanism actually appears as an efficient strategy. The similarity between our equation for chlorophyll *a* synthesis (equation 3) and the one presented by Geider et al. (1997) should be pointed out. Both equations introduce a "coefficient of carbon allocation to chlorophyll *a* synthesis", respectively designated by k in this paper and by ρ in Geider et al. This similarity suggests that k is comparable with ρ , which is regulated by the ratio of achieved to potential photosynthesis (i.e. regulatory ratio), and hence, by the redox state of the plastoquinone pool in the chloroplasts (see also Falkowski and Raven 1997). Interestingly, though k and ρ are introduced following two very different approaches, the light-dependence of k , according to our experimental data, is the same as the variation of ρ , namely it decreases when irradiance increases.

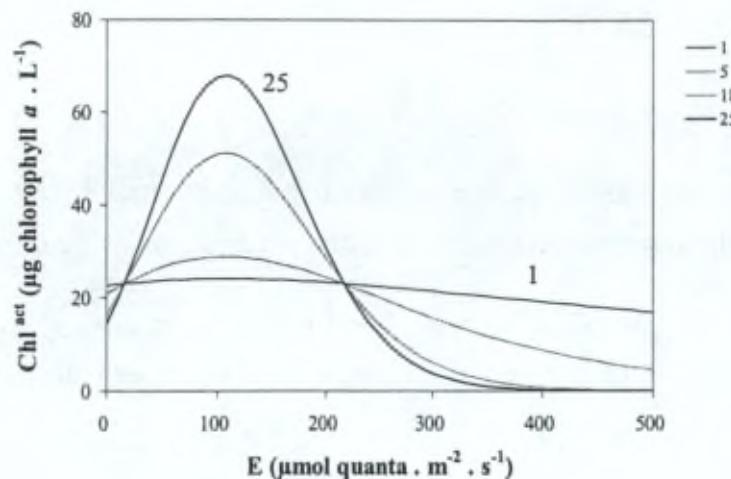


Figure 6 : Modelled variation of Chl^{act} as a function of irradiance at four incubation lengths. Chl^{act} is maximum at the optimal irradiance E_{opt} , which does not depend on the incubation length. The critical irradiance (E_c) is the irradiance at which all curves are concurrent.

The relations between SCAR, k and irradiance (equations 19 and 20) allow us to estimate the value of the critical irradiance (E_c), which appears in the graph of Chl^{act} vs E (figure 6). Under the critical irradiance, Chl^{act} remains constant at any time. By setting to zero the variation rate of Chl^{act} (i.e. $A = 0$ in equation 14, table 2), we obtain:

$$\varepsilon \cdot k \cdot \text{SCAR} - (1 + R_g + k) \cdot b \cdot E_c = 0 \quad (21)$$

Solving numerically this equation leads to a value of E_c close to $218 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.s^{-1}$, for the studied natural assemblage of phytoplankton. At this irradiance, the rate of chlorophyll a synthesis is precisely equal to the rate of active-chlorophyll a disabling by photoinhibition. At lower irradiances, the synthesis of chlorophyll a is more intense than its disabling, then both Chl^{act} and the rate of carbon uptake increase with time. Above the critical irradiance, photoinhibition overrides chlorophyll a synthesis, and the stock of Chl^{act} decreases with time. Our model predicts that almost all photosynthetically-active chlorophyll a becomes disabled after hours of exposure at high irradiance. The variation rate of the cellular carbon becomes then equal to zero (figure 7).

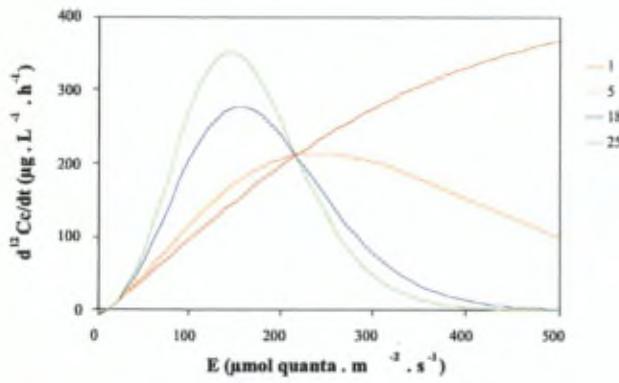


Figure 7 : Evolution of the instantaneous rate of net photosynthetic carbon fixation as a function of irradiance.

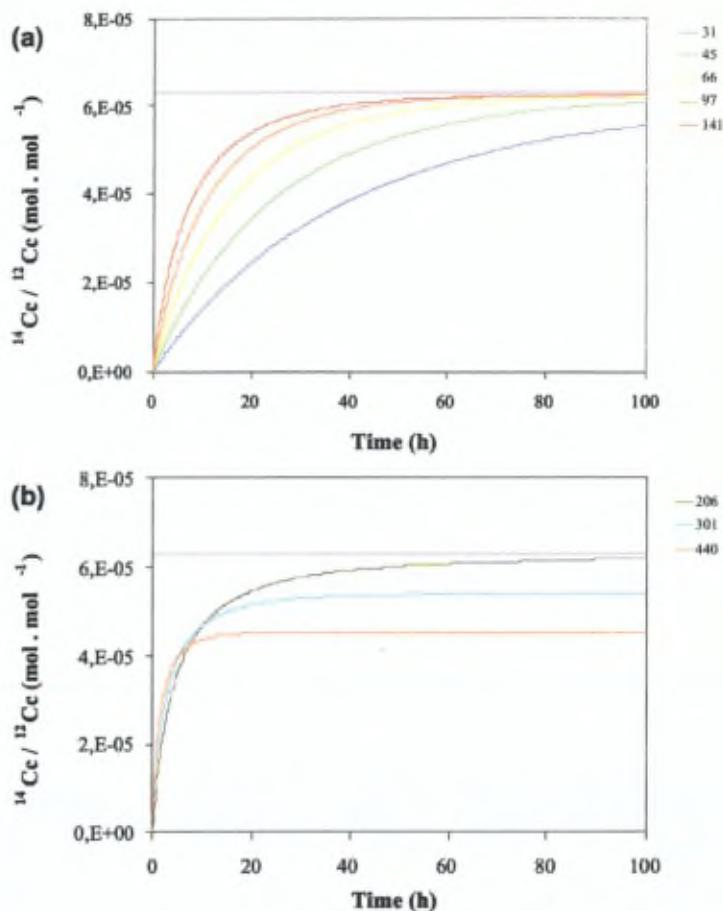


Figure 8 : Evolution of the cellular isotopic ratio as a function of time at eight irradiances: (a) from 31 to 141 $\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, and (b) from 206 to 440 $\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. The isotopic ratio in the environment (C_{iso}), considered as a constant value ($6.29 \cdot 10^{-5} \text{ mol}^{14}\text{C/mol}^{12}\text{C}$), is defined by the horizontal line.

The dynamics of carbon incorporation and release strongly influences the variation of the cellular isotopic ratio. At low irradiances, this ratio increases with time, and tends to reach the isotopic ratio of the environment C_{iso} (figure 8 a). Above the critical irradiance, the cellular isotopic ratio never reaches C_{iso} , but tends towards a lower value due to the complete disabling of active chlorophyll a (figure 8 b). This behaviour may lead to a false interpretation of the results from ^{14}C -uptake experiments. It is commonly accepted that, after a long incubation length, the ^{14}C technique gives an estimate of the net phytoplankton production (NPP) (Bender al. 1987, Williams 1993b). However, this is only justified when the cellular isotopic ratio is equal to C_{iso} , so that all ^{14}C and ^{12}C fluxes are strictly proportional. Our model shows that it becomes impossible, above the critical irradiance. As a consequence, the NPP cannot be measured by a standard ^{14}C -uptake

experiment performed above the critical irradiance. Note that our model introduces an approximation in the ^{14}C budget by neglecting the ^{14}C contribution to chlorophyll *a* synthesis. As a result, even at low irradiance ($< E_c$), the cellular isotopic ratio does not perfectly reach C_{iso} . The departure between the curves and their theoretical asymptote at C_{iso} can, however, hardly be seen on the graphs in figure 8. This justifies a posteriori our approximation that the contribution of ^{14}C in the synthesis of new chlorophyll *a* molecules is negligible. At this stage, it is also possible to justify our hypothesis regarding maintenance respiration. We consider that specific maintenance respiration may vary between $5 \cdot 10^{-4} \text{ h}^{-1}$ and $1 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ for diatoms (adapted from Langdon 1993). By comparison, the lowest value of the specific growth respiration computed from model results (at $30 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.s^{-1}$) is equal to $1 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$. For higher irradiances, the dominance of growth respiration is even greater.

To go further in our interpretation of the carbon dynamics, we observe that the rate $d^{12}\text{Cc}/dt$ (figure 7) is the net instantaneous rate of carbon fixation by phytoplankton, which can be estimated at any time and for any irradiance (equation 12). It is obviously a net rate since it includes the processes of carbon incorporation and algal respiration. Also, it is modulated by the processes of photoinhibition and photoacclimation, via the dynamics of chlorophyll *a*. One will want to link the present model to the classical concept of NPP. The instantaneous rate $d^{12}\text{Cc}/dt$ does not correspond to this concept, since it does not integrate the sum of all carbon fixed during the incubation, but it only represents the state of the dynamics of carbon fixation after a chosen period of light exposition. NPP is by definition equal to :

$$\text{NPP} = \tau^{-1} \cdot [^{12}\text{Cc}(\tau) - ^{12}\text{Cc}(0)] \quad (22)$$

where τ is the time length of light exposition. At constant irradiance, NPP can simply be computed by combining equations 8 and 22. This has been done over time periods ranging from 1 to 25 hours (figure 9). For short incubation length, no maximum in the NPP vs E curve is reached within the computing range.

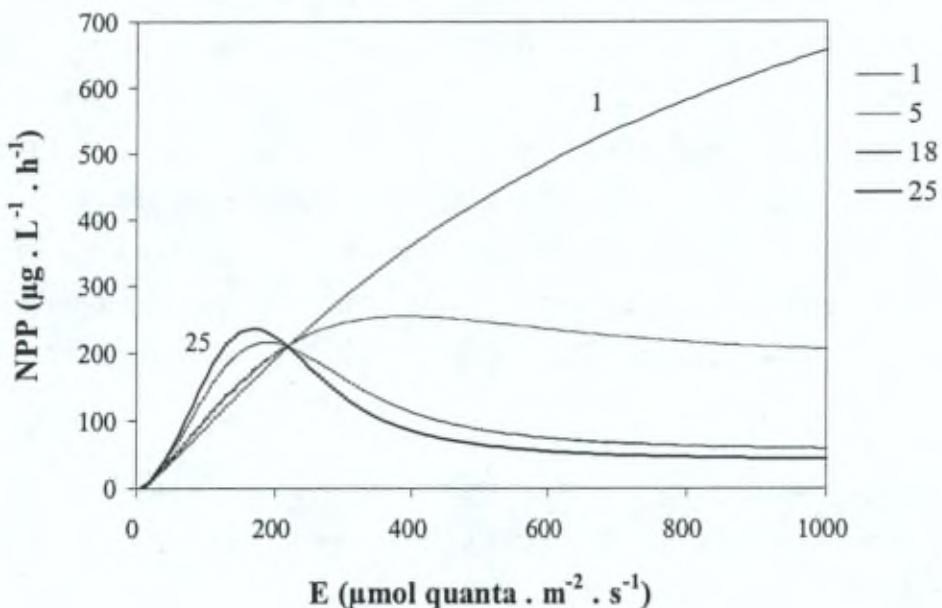


Figure 9 : Light-evolution of the net phytoplankton production (NPP) when computed over a time period of 1h, 5h, 18h, 25h. The critical irradiance (E_c) is the irradiance at which all curves are concurrent.

As the incubation length increases, two features are noticeable. First, a maximum NPP appears, and the irradiance corresponding to this maximum NPP progressively shifts towards lower values. Ultimately, it reaches the irradiance at which Chl^{act} is always at its maximum (E_{opt} , in our case $105 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, cf. figure 6). Secondly, the value of NPP at high irradiance drops markedly until a plateau is reached when no more Chl^{act} is available. Once again, the existence of a convergence point appears as the consequence of the critical irradiance.

5.7 Conclusions

From past experimental and theoretical approaches, we know that the incubation length influences the results of ^{14}C -uptake experiments. As stressed by other authors, the classical ^{14}C experiment, which provides a P-E curve for a single incubation time, may be used to assess the GPP if the duration of incubation is small (~ 1 hour max). However, if we want to estimate phytoplankton production in natural systems, where it is subjected to time-varying environmental factors, we should link ^{14}C results to a physiological

description of photosynthetic carbon fixation. The model presented here allows to interpret the curves obtained for different incubation lengths (1 to 24 hours), and at different (but constant) irradiances. Provided a number of assumptions, this model of carbon flow may be used to describe some properties of the photosynthetic response to light, leaning upon the following parameters: the specific carbon assimilation rate (SCAR), the constant for carbon allocation to chlorophyll *a* synthesis (*k*), the critical irradiance (E_c), under which chlorophyll *a* synthesis is balanced by chlorophyll *a* disabling, the optimum irradiance (E_{opt}), under which the active chlorophyll *a* always exhibits its maximum, and the cellular isotopic ratio, which provides informations about the status of ^{14}C uptake.

From the experimental point of view, extended periods of light exposition are interesting because they reveal the sensitivity of phytoplankton to photoinhibition, and its ability to perform photoacclimation. Especially, these processes often remain insignificant during short-time incubations. The present model may help to take them into account when interpreting ^{14}C results, by providing time-dependent evolution of net carbon fixation by phytoplankton. This is of course at the cost of the extended incubation length needed for the model calibration. Future researches will have to validate the chlorophyll *a* evolution, by comparing Chl^{tot} to fluorimetric measurements of chlorophyll *a* during the incubation. Also, a loss term in carbon and chlorophyll *a* dynamics could be added to account for phytoplankton mortality.

Longer experimental procedures such as the one presented here cannot easily replace the classical P-E curve measurement, especially when performed in the field. However, this experiment allows to assess an optimal incubation length and a maximum irradiance range, with respect to the studied population or assemblage of phytoplankton. Ideally, the present approach has to be complementary to other ones such as, for instance, the oxygen techniques (^{18}O and O₂ light dark bottle) or the fluorescence techniques. Carbon flow through phytoplankton cells is only one aspect of photosynthesis, but the ^{14}C technique might still be the best tool to explore it, as long as its interpretation can lean upon a relevant description of photosynthetic processes.

Acknowledgements

We wish to thank V. Carbonnel for his useful comments. The Belgian FRIA ("Fonds pour la Recherche dans l'Industrie et l'Agriculture") and the "Fondation Baron Van Buuren" have granted the work of one of the authors (X.D.)

Chapitre 6

Spécificités du système estuaire : impact sur la modélisation de la croissance phytoplanctonique

Introduction

Ce chapitre expose les résultats de quelques expériences-clés qui ont été mises sur pied pour répondre à des questions précises concernant la production primaire en milieu estuaire. L'estuaire de l'Escaut est turbide, riche en nutriments, exposé à des variations de salinité et de hauteur d'eau, et il est considéré comme bien mélangé verticalement. Dans ce contexte spécifique, nous souhaitons apporter une réponse à une série de questions précises concernant la production et la mortalité phytoplanctoniques. Nous commençons par aborder la question de l'incorporation de carbone au noir par le phytoplancton. Cette question est importante pour le calcul de la production intégrée sur la profondeur dans l'estuaire de l'Escaut. Nous apportons ensuite des réponses à certaines questions relatives à la mortalité du phytoplancton dans les eaux oligohalines. Sont ainsi abordés l'impact du stress salin sur la croissance du phytoplancton, ainsi que celui du grazing du phytoplancton par le zooplancton dans les eaux saumâtres. A la faveur de deux expériences d'incorporation, dont l'une est effectuée *in situ* et l'autre en incubateur, nous faisons le point sur les effets de la photoinhibition dans un milieu naturel tel que l'estuaire de l'Escaut. Enfin, nous évaluons, de façon théorique, l'impact d'une remise en suspension de la chlorophylle *a* sur l'estimation de la production brute du phytoplancton intégrée verticalement. L'ensemble de ces observations, et des conclusions que nous en tirons, seront utilisées dans les chapitres suivants pour modéliser la production phytoplanctonique dans l'estuaire de l'Escaut.

6.1 L'incorporation de carbone au noir par le phytoplancton

6.1.1 Introduction

Lorsque l'on mesure la photosynthèse par la technique du ^{14}C , l'une des étapes de l'interprétation des résultats consiste à soustraire de l'incorporation totale de ^{14}C celle qui prend place dans l'obscurité. On différencie ainsi en principe l'activité exclusivement phototrophe des activités qui peuvent se dérouler au noir (i.e. chémoautotrophes, hétérotrophes). Toutefois, nous voulons vérifier que le phytoplancton n'incorpore pas de carbone au noir en s'appuyant sur ses réserves d'énergie. Cette question est capitale dans le cas de l'estuaire de l'Escaut, où l'épaisseur de la couche euphotique est faible en comparaison de celle de la profondeur de mélange, et où les cellules de phytoplancton sont entraînées dans des cycles verticaux au cours desquels les algues sont alternativement soumises à l'obscurité et à la lumière. Nous avons donc mis au point une expérience simple pour s'assurer que le phytoplancton n'incorpore pas de carbone au noir, même dans le cas où il vient d'être exposé à la lumière. La réponse à cette question présente d'autant plus d'intérêt qu'elle influence également l'interprétation de l'activité chémoautotrophe nitrifiante. Au chapitre 3, nous avons en effet retenu l'hypothèse que l'incorporation de ^{14}C au noir dans l'estuaire de l'Escaut peut être pour l'essentiel attribuée à l'activité nitrifiante, et dans une moindre mesure à l'activité hétérotrophe.

6.1.2 Matériel et méthode

Le principe de l'expérience est de comparer l'incorporation de ^{14}C par le phytoplancton dans trois conditions d'exposition à la lumière. Nous travaillons sur des séries de 2 à 3 flacons afin de tenir compte de la dispersion statistique des résultats liée à la technique. Le phytoplancton a été prélevé à Sint-Anna (Antwerpen) respectivement le 23/05/2001 et le 21/06/2001, pour la première et la seconde expérience. La première expérience dure cinq heures. Pendant ce temps, une première série de flacons est exposée 2.5 heures à une intensité lumineuse constante puis placée au noir jusqu'à la fin de l'expérience. Une deuxième série de flacons est placée de façon répétée à la lumière puis au noir avec des pas de temps de 30 minutes, de sorte qu'au total le phytoplancton est également exposé à la lumière durant 2.5 heures. La dernière série de flacons est soumise à l'obscurité pendant la durée totale de l'expérience. Un éventuel écart entre les résultats des deux premières séries pourrait mettre en évidence une stimulation éventuelle de l'incorporation au noir de ^{14}C par le phytoplancton, juste après son exposition à la lumière. La troisième

série nous permet d'évaluer l'incorporation totale au noir que nous soustrayons des autres résultats. Pour ce qui concerne la seconde expérience (21/06/2001), elle a été effectuée sur une durée totale de six heures plutôt que cinq. Les durées d'exposition à la lumière ont été adaptées à trois heures pour les deux premières séries de flacons. Une série supplémentaire de flacons a de plus été exposée à la lumière pendant trois heures puis immédiatement filtrée.

6.1.3 Résultats et discussion

Au vu des résultats de la figure 6.1, et compte tenu de la dispersion non-négligeable des pics autour de la valeur moyenne de chaque série, il est difficile de mettre en évidence une incorporation phytoplanctonique de ^{14}C à l'obscurité. Ceci est d'autant plus vrai que les différences apparentes entre les résultats obtenus sous lumière continue et sous alternance de lumière-obscurité sont de signe opposé dans les deux expériences (figure 6.1 a et b). On aurait tendance à voir à la figure 6.1 b une augmentation des quantités incorporées pour les échantillons exposés plus souvent au noir. Mais cette observation est contredite par la figure 6.1 a, où c'est l'inverse qui se produit.

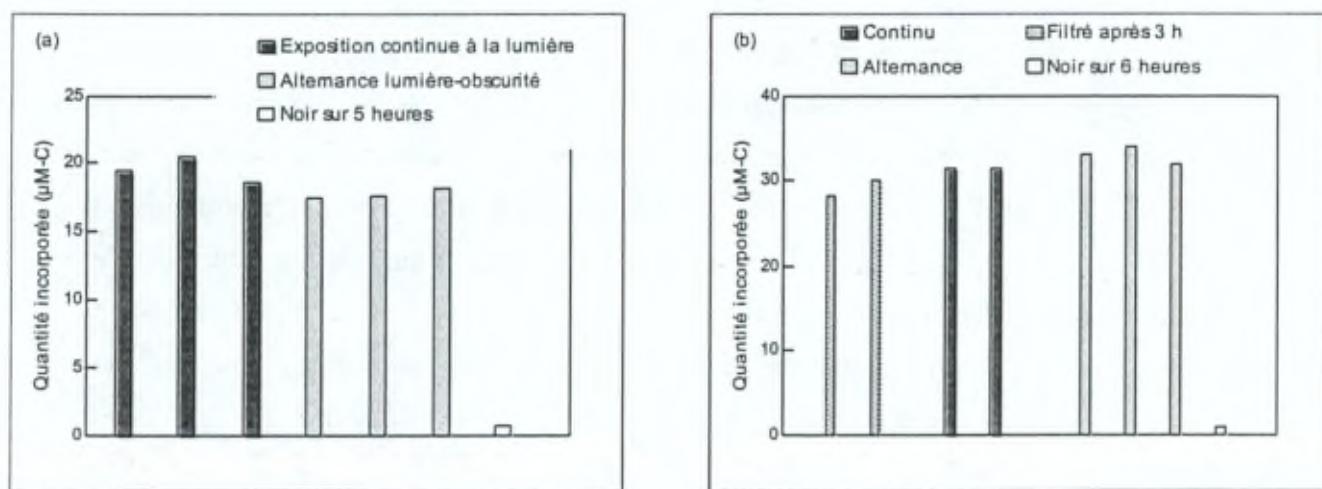


Figure 6.1 : Incorporation de ^{14}C par le phytoplancton de Sint-Anne, (a) le 23/05/2001 sur 2.5 heures d'exposition à la lumière, et (b) le 21/06/2001 sur trois heures d'exposition à la lumière. Les mesures ont été reproduites pour tenir compte de la dispersion statistique sur la mesure d'incorporation (différence de hauteur entre les pics d'une même couleur).

Les quantités de ^{14}C incorporées au noir sont tellement faibles par rapport aux quantités incorporées à la lumière, qu'elles sont plus petites que l'écart statistique entre les pics. Nous savons qu'une partie au moins de ce qui est incorporé au noir est due à l'activité nitrifiante (Billen 1976). Pour le reste, cette expérience ne permet ni de confirmer ni d'infirmer l'hypothèse que nous avions retenue au chapitre 3, et selon laquelle l'incorporation de bicarbonate au noir est essentiellement due à la nitrification. En revanche, nous pouvons conclure avec certitude que, même si le phytoplancton incorporait au noir, les quantités en jeu seraient parfaitement négligeables par rapport à ce qui est incorporé à la lumière. Il faudrait imaginer des conditions improbables en réalité pour qu'une éventuelle contribution du phytoplancton au noir s'avère significative dans les bilans d'incorporation de carbone de la colonne d'eau.

6.2 L'effet de la salinité sur la production primaire

6.2.1 Introduction

Certains auteurs ont montré qu'une variation de la salinité peut affecter significativement les performances du phytoplancton dans des milieux extrêmes, lorsque la salinité varie de 1 à 150 (Henley et al. 2002). En revanche, il avait été montré auparavant que certaines espèces de diatomée résistent à des variations importantes de la salinité (variation de 1 à 68 ; Williams 1964). Aux plus petites échelles de variation, telles que celles rencontrées dans les estuaires tidaux, il est généralement admis que la salinité 5 constitue une barrière mortelle, tant pour le phytoplancton d'eau douce que pour le phytoplancton marin (Kies 1997). Il s'avère que la diversité des espèces d'eau douce diminue fortement à la salinité 5. En revanche, des changements de salinité de faible amplitude, mais qui se produisent régulièrement avec des fréquences de l'ordre du jour, sont considérés comme un facteur stimulant la diversité des espèces d'eau douce (Flöder et Burns 2004).

Dans l'estuaire de l'Escaut, la salinité varie de 0 à 30 entre les eaux douces de l'amont et les eaux salées de la plume. Cette variation de salinité a un effet prononcé sur la composition des espèces le long de l'axe longitudinal (Muylaert, Sabbe et al. 2000). On distingue des espèces d'eaux douces, d'autres espèces présentes dans les eaux oligohalines, et des espèces d'eaux marines qui pénètrent dans l'estuaire par l'aval. Entre les salinités 0 et 5, dans la région du maximum de turbidité, la concentration en chlorophylle *a* diminue brutalement, et passe de 55 à 7 µg/l (cf. chapitre 3, planche E e). Indépendamment de toute considération concernant la composition des espèces algales et

leur diversité dans l'estuaire, nous voulons savoir si l'augmentation de la salinité peut être à l'origine de la décroissance de la biomasse algale à cet endroit. Nous avons donc mené deux expériences d'incorporation de ^{14}C à salinité variable, afin de mesurer l'effet potentiel d'une augmentation de la salinité sur la production du phytoplancton de la zone oligohaline.

6.2.2 Matériel et méthode

Le phytoplancton a été prélevé à Sint-Anna (Antwerpen) durant l'étale de marée basse le 8/6/2001 et le 27/6/2001. Dans les deux cas, du NaCl est ajouté dans les flacons de façon à obtenir différentes salinités. La salinité est mesurée à l'aide d'un conductivimètre dans chaque bouteille après l'ajout de sel. Les bouteilles sont exposées à $180 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ durant respectivement 3h00 et 3h30 pour la première et la seconde expérience. Deux duplicats sont mesurés pour chaque salinité, et l'incorporation au noir est soustraite de chaque mesure afin de tenir compte de la production bactérienne. La première incubation (8/6/2001) est effectuée juste après l'ajout de sel, la salinité des flacons variant de 1 à 10. La seconde incubation (27/6/2001) est effectuée 24 heures après l'ajout de sel, la salinité variant de 1 à 27. Pendant ces 24 heures, les bouteilles sont stockées au noir à la température de l'Escaut.

6.2.3 Résultats et discussion

Les résultats de la figure 6.2 a montrent que le stress salin ne provoque apparemment pas une lyse brutale des cellules sur trois heures d'incubation. Toutefois, la production phytoplanctonique fait l'objet d'une diminution de 18 % lorsque la salinité passe de 1 à 10. Sur le graphe de la seconde incubation (figure 6.2 b), une variation de la salinité engendre également une diminution de la production phytoplanctonique, mais cette diminution n'est pas linéaire. Dans la deuxième expérience, le phytoplancton est préalablement resté exposé aux nouvelles conditions salines pendant 24 heures. Ceci pourrait jouer sur l'apparente stabilisation de la courbe aux basses salinités, par comparaison avec la droite descendante de la première expérience. En revanche, lorsque la salinité passe de 1 à 27, la production phytoplanctonique s'écroule; elle tombe à 12 % de sa valeur initiale. Mais cette situation, où le phytoplancton d'amont est exposé à une telle salinité, n'est pas censée se produire dans les conditions naturelles. En conclusion, malgré des conséquences indéniables sur la production phytoplanctonique, le stress salin ne peut pas expliquer à lui seul la diminution brutale de la biomasse algale dans la région oligohaline, entre les salinités 1 et 5 (voir planche E e).

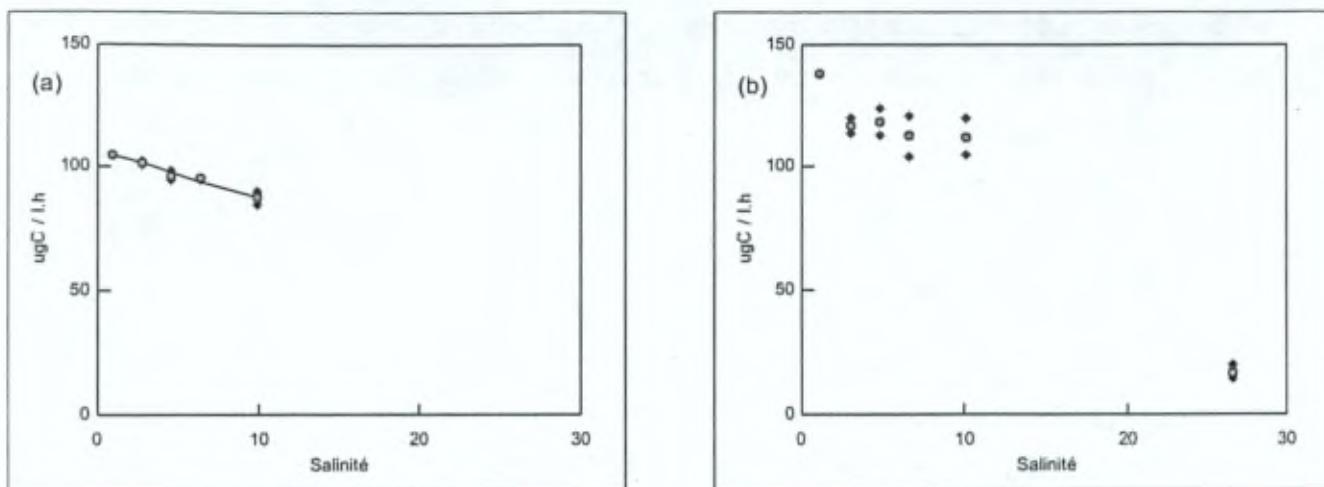


Figure 6.2 : Vitesse d'incorporation du carbone par le phytoplancton de Sint-Anna (prélevé à une salinité de 1) pour différentes augmentations de la salinité par ajout de NaCl. (a) Prélèvement du 8/6/2001. (b) Prélèvement du 27/6/2001 ; l'incubation commence 24 heures après l'ajout de sel. Dans les deux cas, le premier point est le résultat d'une mesure à la salinité du prélèvement. Les losanges sont les résultats de mesure, et les ronds sont la moyenne des valeurs obtenues à chaque salinité.

6.3 Le grazing du phytoplancton par le zooplancton

6.3.1 Introduction

Le grazing du phytoplancton par le zooplancton pourrait constituer un facteur de contrôle significatif de la biomasse algale, et donc de la production phytoplanctonique dans l'estuaire de l'Escaut. Il est reconnu qu'une communauté de copépodes se développe dans les eaux saumâtres de l'estuaire, aux environs de la salinité 10 – 15 (Soetaert et Van Rijswijk 1993 ; Soetaert et Herman, 1994). Toutefois, l'activité des copépodes ne s'étend pas sur tout l'estuaire (Heip et al. 1995). Kromkamp and Peene (1995 ID 263) éliminent l'hypothèse d'un grazing du phytoplancton par le zooplancton dans la région oligohaline, où se situe le minimum d'oxygène dissous (Antwerpen, km 70-80). En effet, la qualité de l'eau y est trop peu propice au développement du mésozooplancton. En revanche, comme nous l'avons déjà évoqué au chapitre 3, le grazing des diatomées par le protozoaire *Asterocaelum* est possible aux faibles salinités selon Muylaert, Van Mieghem et al. (2000). Dans le but d'expliquer la décroissance de la chlorophylle *a* dans cette région,

nous avons voulu mesurer le grazing du phytoplancton par le zooplancton, sans distinction des espèces, dans les eaux oligo- et mésohalines de l'estuaire. Pour ce faire, nous avons utilisé la technique de mesure par dilutions proposée par Landry & Hassett (1982).

6.3.2 Matériel et Méthode

Le principe de la méthode est de mesurer la production phytoplanctonique en présence du zooplancton, en diluant les organismes avec de l'eau filtrée provenant du milieu naturel. Selon Landry & Hassett (1982), la dilution réduit la probabilité et, en conséquence, le taux de rencontre entre phytoplancton et zooplancton. En portant en graphique la vitesse de variation de la production algale en fonction du facteur de dilution, la pente de la droite de régression livre théoriquement la vitesse de grazing. La vitesse réelle de croissance du phytoplancton est estimée comme la vitesse apparente de croissance extrapolée à 100 % de dilution (i.e. absence de grazers). L'approche repose sur quelques postulats :

- La vitesse de croissance du phytoplancton n'est limitée ni par les nutriments, ni par une dépendance envers la densité de phytoplancton.
- La croissance phytoplanctonique est exponentielle.
- La vitesse de consommation par le zooplancton est linéaire par rapport à la concentration en phytoplancton (i.e. le degré de dilution).

Nous avons suivi le mode opératoire en tout point, à ceci près que l'eau n'a jamais été tamisée avant l'expérience. En effet, nous mesurons volontairement l'activité totale de tous les grazers, et pas seulement celle du microzooplancton. L'expérience a été reproduite pour différents échantillons prélevés le long de l'estuaire afin d'établir un profil longitudinal du grazing.

6.3.3 Résultats et discussion

L'évolution longitudinale du grazing (figure 6.3) est marquée par une faible activité zooplanctonique dans la région du maximum de chlorophylle *a*, où l'on observe également le minimum d'oxygène dissous.

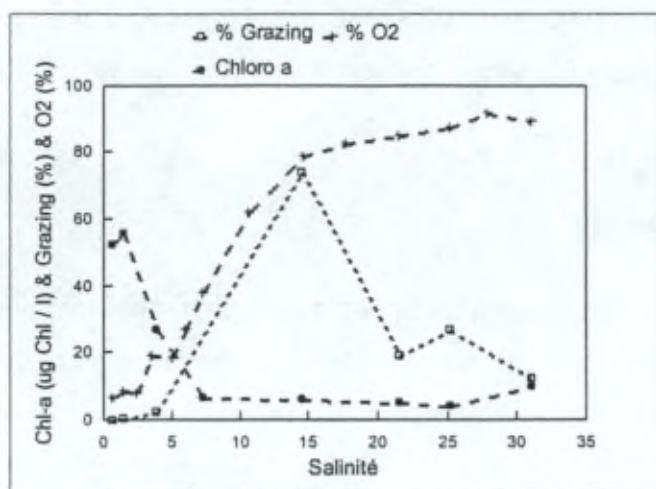


Figure 6.3 : Evolutions longitudinales du pourcentage de grazing (en % de la production phytoplanctonique), de la chlorophylle *a*, et de l'oxygène dissous (en % par rapport à la concentration de saturation) dans l'estuaire de l'Escaut, en juillet 2000.

L'activité zooplanctonique augmente avec l'oxygène dissous, jusqu'à un maximum de 80 % de la production phytoplanctonique à la salinité 15. Sur ce graphe, le grazing est parfaitement négligeable aux faibles salinités. L'activité de *Asterocaelum* telle qu'évoquée par Muylaert, Van Mieghem et al. (2000) n'est donc pas du tout reflétée dans nos résultats. Il faut cependant préciser que la technique des dilutions est peu adaptée aux estuaires, en particulier dans la région du maximum de turbidité. La technique ne permet de mesurer la vitesse de grazing que comme un pourcentage de la production phytoplanctonique, ce qui signifie qu'on ne mesure que la consommation zooplanctonique qui affecte le phytoplancton vivant. Cette technique néglige donc le grazing par le zooplancton des particules détritiques et du phytoplancton mort. D'autre part, le postulat d'une vitesse de consommation linéaire par rapport au phytoplancton a été mis en doute, et il est de plus en plus commun de considérer la réponse du zooplancton comme non-linéaire envers le degré de dilution (Dolan et al. 2000). A ce stade, nous pouvons tout au plus conclure que nos résultats vont dans le sens d'un grazing non-négligeable par les copépodes, dans les eaux mésohalines de l'estuaire de l'Escaut (salinité 10 – 15) (Heip et al. 1995 ; Soetaert et Van Rijswijk 1993).

6.3.4 Conclusion

Si l'on part du principe que, aux salinités 10 - 15, le grazing par les copépodes est important, alors cette région de l'estuaire constitue une barrière pour le phytoplancton venant de l'amont et un puit pour la chlorophylle *a*. Dans cette éventualité, la décroissance de biomasse algale observée aux faibles salinités doit suivre la droite de dilution entre le maximum de chlorophylle *a* (salinité 1 - 2) et la zone de grazing (salinité 10 - 15) (figure 6.4). Cette hypothèse expliquerait alors en partie l'allure du profil longitudinal observé pour la chlorophylle *a* dans les eaux oligohalines. Cependant, au vu de la figure 6.3, on constate que l'intensité du grazing mesuré entre les salinités 10 et 15 ne représente au mieux que 40 à 70 % de la production phytoplanctonique locale. Il est donc pratiquement impossible de concevoir que le grazing soit responsable de la disparition massive du phytoplancton vivant transporté par advection depuis la zone amont. Il n'est par contre pas impossible que le zooplancton présent dans la zone mésohaline (salinité 10 - 15) soit responsable d'une intense consommation de matières organiques détritiques d'origine algale. L'approche expérimentale poursuivie ne permet pas de vérifier cette dernière hypothèse.

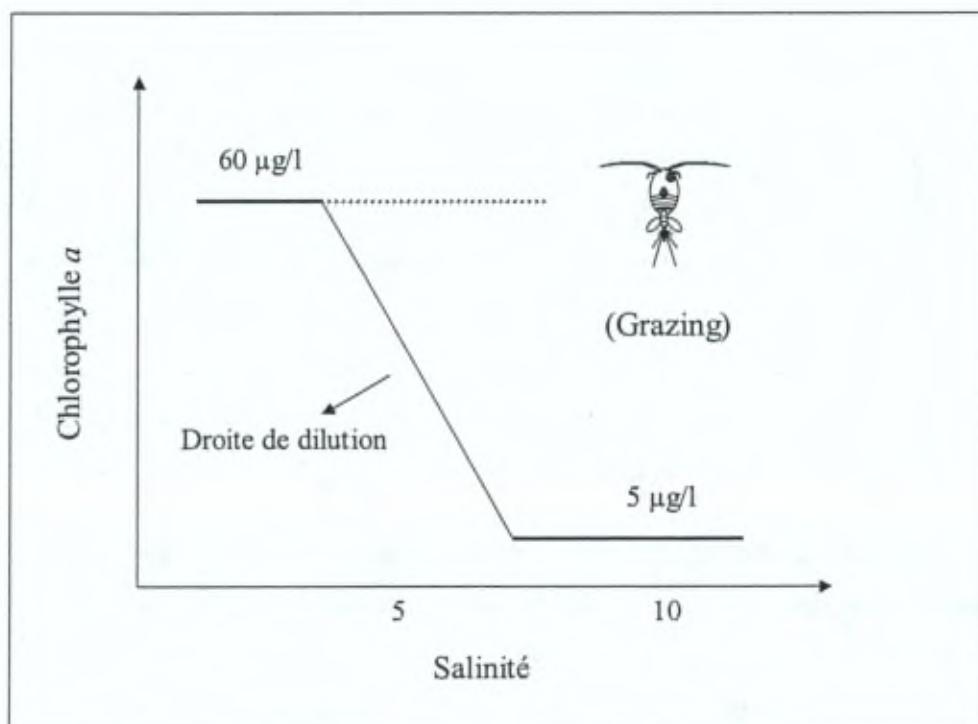


Figure 6.4 : Schéma de la droite de dilution de la chlorophylle *a* entre les salinités 0 et 10, dans l'hypothèse où le grazing par les copépodes est important aux environs de la salinité 10-15.

6.4 La resuspension de la chlorophylle *a* au cours du cycle tidal

6.4.1 Introduction

En milieu estuaire, certains auteurs ont déjà observé des variations rapides de la concentration en chlorophylle *a* accompagnant des variations rapides de la turbidité (Demers et al. 1987; Cloern et al. 1989; Litaker et al. 1993; MacIntyre et Cullen 1996). Ils relient ces changements à la sédimentation et à la remise en suspension du phytoplancton et des matières sédimentables, suite à l'augmentation de la vitesse du courant, due par exemple aux marées ou au cisaillement généré par le vent. D'après MacIntyre et Cullen (1996), de telles variations de la turbidité et de la chlorophylle *a* peuvent n'avoir qu'un effet limité sur la production phytoplanctonique, à condition que ces changements se déroulent de concert (c-à-d, sous l'influence du même forçage extérieur). Partant de l'hypothèse qu'une augmentation de la biomasse algale lors de la remise en suspension compenserait la diminution simultanée de la disponibilité lumineuse dans la colonne d'eau, la production phytoplanctonique intégrée sur la profondeur resterait, selon ces auteurs, inchangée au cours du processus.

L'existence d'un tel mécanisme de compensation dans l'estuaire de l'Escaut entraînerait l'invariance de la production phytoplanctonique au cours des marées ; et cela, malgré la variation des MES dans la colonne d'eau, qui augmentent d'un facteur quatre entre l'étalement et le maximum de vitesse du courant. Le seul moyen de savoir à quoi s'en tenir est de mesurer simultanément la concentration en chlorophylle *a* et la turbidité au cours de la marée et, éventuellement, à différentes profondeurs. De telles mesures ont été réalisées dans l'estuaire de l'Escaut (Vanderborgh, comm. pers.). A l'exception d'un cas unique analysé ci-dessous, aucune corrélation positive n'a jamais été observée. Le manque de corrélation suggère que d'éventuelles variations à court terme de la chlorophylle *a* dans l'estuaire de l'Escaut peuvent être attribuées essentiellement à l'advection des masses d'eau, et non pas à la resuspension du phytoplancton.

Néanmoins, il nous a paru utile d'examiner ici la validité de l'hypothèse de compensation d'un point de vue strictement théorique, bien que cela concerne peu l'estuaire de l'Escaut. La remise en suspension de la chlorophylle *a* semble en effet être fréquente dans les estuaires peu profonds (< 2.5 m, voir citations ci-dessus), les portions d'estuaire qui constituent des surfaces peu profondes (par exemple le Molenplaat, < 60 cm, dans l'estuaire aval de l'Escaut, Lucas 2003), ainsi que dans les estuaires qui permettent le développement de diatomées benthiques (de Jonge et van den Bergs 1987). Nous

examinons donc en détail le cas d'une resuspension du phytoplancton et des matières sédimentables, qui serait liée à des variations de la vitesse du courant. Pour cela, nous développons le calcul de la production phytoplanctonique intégrée sur la profondeur en tenant compte d'une co-variation de la chlorophylle *a* et des matières en suspension. Etant donnée la dépendance non-linéaire de la production intégrée envers la turbidité, l'hypothèse de compensation n'est pas toujours vérifiée. Nous tentons donc de cerner les conditions dans lesquelles l'hypothèse de compensation se vérifie. Ce calcul nous permet également d'évaluer l'erreur commise sur l'estimation de la production intégrée en négligeant la resuspension de la chlorophylle *a*, dans le cas où elle se produit.

6.4.2 Modélisation de la resuspension de la chlorophylle *a*

6.4.2.a Procédé et équations

Nous comparons deux situations différentes dans une colonne d'eau bien mélangée : l'une, présentant de faibles concentrations en matières sédimentables et en chlorophylle *a* (i.e. l'étale), et l'autre présentant des concentrations plus élevées pour les deux constituants (i.e. flot/jusant). Soit ss_0 la concentration minimum des matières sédimentables, et ss_m la concentration maximum. Ces valeurs dépendent à la fois de l'intensité du régime hydrodynamique et de la sémentabilité des particules. Nous les relierons à l'aide d'un coefficient de proportionnalité κ strictement empirique.

$$ss_m = \kappa * ss_0$$

L'amplitude de la variation de concentration des matières sédimentables (Δss) vaut :

$$\Delta ss = ss_m - ss_0 = ss_0 * (\kappa - 1)$$

Suivant les hypothèses de MacIntyre et al. (1996), nous partons du principe que la fraction de chlorophylle *a* remise en suspension ($\Delta Chl/Chl_0$) est proportionnelle à la fraction des matières sédimentables re-suspendues ($\Delta ss/ss_0$) via un paramètre λ :

$$\Delta Chl/Chl_0 = \lambda * \Delta ss/ss_0$$

De cette manière, les concentrations minimum et maximum de la chlorophylle *a* (resp. Chl_0 and Chl_m) sont reliées selon :

$$Chl_m = Chl_0 * (1 + \kappa\lambda - \lambda)$$

La concentration des matières sédimentables (ss) est reliée au coefficient d'atténuation verticale de la lumière (k_d) par une équation linéaire (voir chapitre 7 pour plus de détails). Ce coefficient k_d contrôle la pénétration lumineuse dans la colonne d'eau en fonction de la profondeur (z) :

$$k_d = a + b * ss$$

$$E = E_0 * \exp(-k_d * z)$$

où a dépend de la transparence de l'eau filtrée et b est dépendant de la nature des particules.

6.4.2.b Validité de l'hypothèse de compensation

La production phytoplanctonique intégrée sur la profondeur (GPP_z) est estimée à partir de l'équation de Platt (cf. chapitre 2). Cette équation n'est pas intégrable analytiquement dans son ensemble. On peut néanmoins l'intégrer dans la portion linéaire croissante de la courbe (où $GPP = Chl \cdot \alpha \cdot E$), et dans la portion horizontale de la courbe, à saturation lumineuse (où $GPP = Chl \cdot P_{max}^B$). Considérons le rapport R de la production intégrée GPP_z^0 (ss_0, Chl_0) sur la production intégrée GPP_z^m (ss_m, Chl_m). Ce rapport R indique quand une augmentation de la turbidité est compensée, dans l'estimation de GPP_z , par une augmentation simultanée de la concentration en chlorophylle a . La compensation est obtenue lorsque $R = 1$. Un calcul rapide permet de constater que R vaut, dans les deux domaines de la courbe de Platt évoqués ci-dessus :

$$R = GPP_z^0 / GPP_z^m = (a + b \cdot \kappa \cdot ss_0) / ((a + b \cdot ss_0) \cdot (1 + \kappa \cdot \lambda - \lambda))$$

Cela n'est valable que lorsque la profondeur euphotique maximum reste inférieure à la profondeur de mélange minimum. La figure 6.5 indique que la compensation n'est possible que pour des valeurs élevées de λ , c'est-à-dire lorsque la dynamique des MES et celle de la chlorophylle a sont fortement liées. La valeur $R = 1$ définit une valeur particulière de λ que l'on peut désigner sous le nom de « lambda de compensation » ou λ_C .

$$\lambda_C = (1 + a / (b \cdot ss_0))^{-1}$$

λ_C dépend de la transparence de l'eau filtrée (a), ainsi que de la nature des matières sédimentables (b) et de leur concentration minimum (ss_0).

En prenant comme exemple la seule corrélation positive observée entre la chlorophylle *a* et la turbidité (cf. supra) dans l'estuaire de l'Escaut, nous pouvons calculer les valeurs de lambda, de kappa, et du rapport R ($\lambda = 0.19$; $\kappa = 4$; $R = 1.81$). Dans ce cas, l'augmentation de chlorophylle *a* ne compense pas l'augmentation de turbidité. En effet, $GPPz^0$ est égal à 1.81 fois $GPPz^m$, et l'hypothèse de compensation n'est par conséquent pas valable ici.

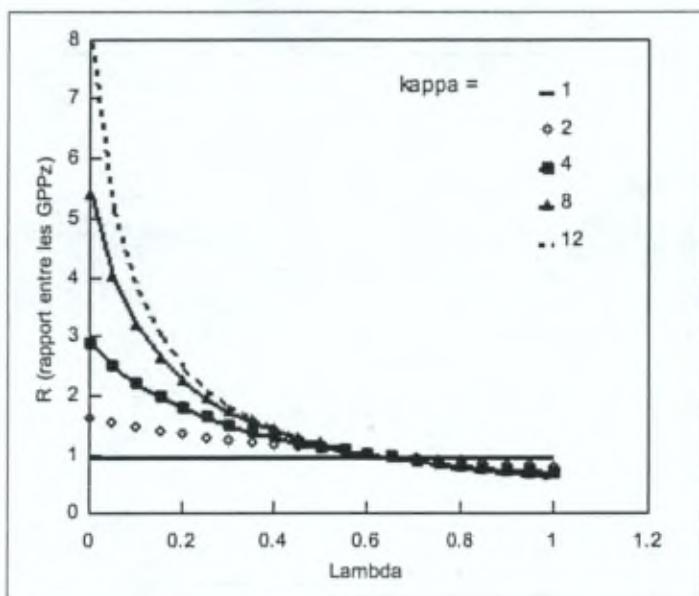


Figure 6.5 : Evolution, en fonction de λ , du rapport R entre $GPPz^0$ (au minimum de courant) et $GPPz^m$ (au maximum de courant). Chaque courbe correspond à un κ différent. Lorsque $R = 1$, l'hypothèse de compensation est vérifiée et la resuspension de la chlorophylle *a* compense l'augmentation de turbidité dans le calcul de $GPPz$. Le lambda de compensation (ici, $\lambda_C = 0.63$) ne dépend pas du régime hydrodynamique (kappa), c'est l'intersection de toutes les courbes. Les courbes de R sont calculées pour l'estuaire de l'Escaut (i.e. $a = 1.4 \text{ m}^{-1}$; $b = 0.06 \text{ m}^{-1} \cdot (\text{mg/l})^{-1}$; $ss_0 = 40 \text{ mg.l}^{-1}$).

6.4.2.c Erreur relative sur l'estimation de $GPPz$

Supposons qu'on néglige la resuspension de la chlorophylle *a* ($\lambda = 0$), alors qu'elle se produit en réalité en raison d'une resuspension des matières sédimentables ($\lambda \neq 0$), l'erreur relative commise sur $GPPz$ au maximum de courant est donnée par :

$$1 - [GPPz^m(\lambda=0) / GPPz^m(\lambda \neq 0)] = 1 - [R(\lambda \neq 0) / R(\lambda=0)] = 1 - (1 + \kappa\lambda - \lambda)^{-1}$$

Une resuspension de la chlorophylle *a* peut avoir un impact significatif sur l'estimation de GPPz, en particulier dans un système dynamique dont les vitesses de courant atteignent des valeurs élevées (i.e. avec de hautes valeurs de κ). Dans la plupart des estuaires soumis aux marées, comme dans le cas de l'Escaut, κ présente apparemment une valeur d'environ 4 (voir les données minimum et maximum des matières en suspension reprises par exemple dans Demers et al. 1987; Cloern et al. 1989; Litaker et al. 1993; MacIntyre et Cullen 1996).

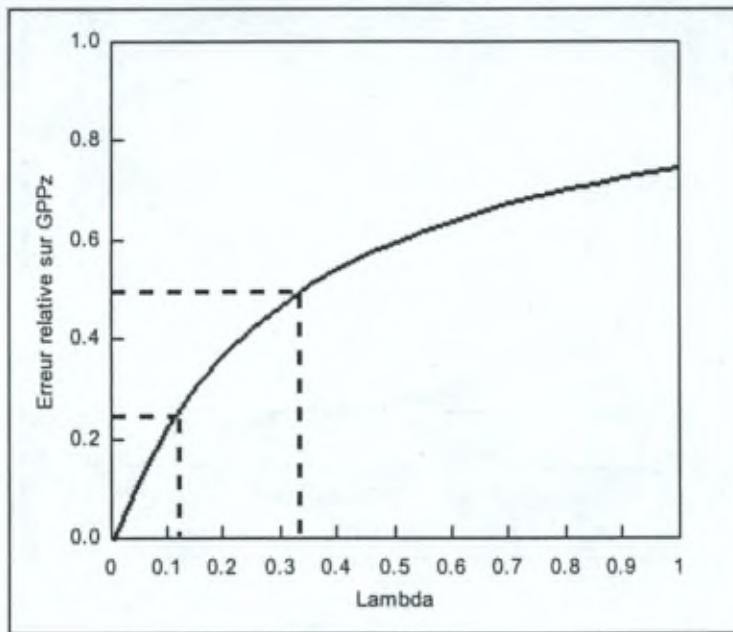


Figure 6.6 : Evolution, en fonction de λ , de l'erreur relative commise sur l'estimation de GPPz lorsqu'on néglige la re-suspension de la chlorophylle *a*. Ici, κ vaut 4.

Avec $\kappa = 4$, lorsqu'on néglige la resuspension de la chlorophylle *a*, une sous-estimation de 25 % sur la valeur réelle de GPPz au maximum de courant apparaît avec un $\lambda = 0.111$ (figure 6.6). L'erreur relative augmente avec la valeur de lambda (i.e. la fraction de chlorophylle *a* re-suspendue), et une erreur relative de 50 % sur GPPz se produit avec un $\lambda = 0.333$, toujours dans le sens d'une sous-estimation.

6.4.3 Conclusion

Un lien étroit entre la dynamique de la chlorophylle *a* et celle des MES n'est pas systématiquement observée dans les estuaires. Jusqu'à présent, ce lien n'est observé que dans des estuaires, ou portions d'estuaire, peu profonds (< 2.5 m), et dans certains

estuaires qui permettent le développement de diatomées benthiques associées aux particules du fond. Pour de tels systèmes exposés à une resuspension synchrone du phytoplancton et des matières sédimentables, ne pas prendre en compte la variation de la chlorophylle *a* conduit à une sous-estimation de la GPPz au maximum des vitesses de courant. La valeur de cette estimation erronée peut tomber sous 60 % de la valeur réelle attendue. Naturellement, l'erreur relative est d'autant plus importante que la fraction de chlorophylle *a* re-suspendue est élevée, et que les vitesses de courant sont élevées. Par ailleurs, nos calculs montrent que, théoriquement, une augmentation de la concentration en chlorophylle *a* offre très peu de chance de compenser une augmentation simultanée de la turbidité, du point de vue de l'estimation de la GPPz.

Chapitre 7

Control of phytoplankton production by physical forcing in a strongly tidal, well-mixed estuary

Desmit X., Vanderborght J.P., Regnier P. and Wollast R.^(†)

Submitted to Biogeosciences (29/12/2004), accepted in Biogeosciences Discussions (07/01/2005), published in Biogeosciences Discussions¹ (14/01/2005)

Résumé

Un modèle de production phytoplanctonique est proposé pour un estuaire turbide et fortement soumis aux marées, tel que l'estuaire de l'Escaut. Il est basé sur la description de la croissance phytoplanctonique en fonction de la lumière, de la respiration algale et de la mortalité. Les forçages du modèle sont l'irradiance solaire incidente, la profondeur de mélange et la pénétration lumineuse dans l'eau. Le coefficient d'atténuation de la lumière dans l'eau est directement relié à la dynamique des matières particulières en suspension. Les résultats du modèle montrent que l'estimation de la croissance phytoplanctonique doit être effectuée avec une résolution suffisamment fine dans le temps pour tenir compte des interférences entre les forçages physiques d'origine solaire et tidale. Les deux principales conclusions sont, d'une part, que les variations à court terme des facteurs physiques doivent être prises en compte pour estimer la production phytoplanctonique dans un système si dynamique, et d'autre part qu'une production nette positive du phytoplancton peut prendre place dans des zones de haute turbidité. Le modèle est utilisé pour expliquer la décroissance typique des biomasses phytoplanctoniques observée le long du gradient longitudinal de salinité des estuaires turbides, en prenant l'estuaire de l'Escaut comme exemple.

Abstract

A model for phytoplanktonic production in turbid, macro-tidal estuaries is proposed. It is based on the description of light-dependent algal growth, phytoplankton respiration and mortality. The model is forced by solar irradiance, mixing depth and light penetration. The extinction coefficient is directly related to the dynamics of suspended particulate matter. Model results show that the description of phytoplankton growth must operate at a time resolution sufficiently high to describe the interference between solarly and tidally driven physical forcing functions. It also demonstrates that in tidal and turbid estuaries, the short-term variation of the euphotic depth to mixing depth ratio has to be resolved for production estimates and that net positive phytoplankton production can be achieved in areas of high turbidity. The model is used to explain the typical phytoplankton decay observed along the longitudinal gradient of salinity in turbid estuaries, using the Western Scheldt as an example.

^(†) Décédé le 28 juillet 2004

¹ www.copernicus.org/EGU/bg/bgd/2/37/bgd-2-37.pdf

7.1 Introduction

Estuaries are often subject to high nutrient loads, which may lead to local eutrophication of the water masses. In turbid estuaries, however, phytoplankton respiration can exceed biomass production because of the low light penetration into the water column. This results in a negative depth-integrated net primary production (NPP) (Grobbelaar 1985; Reid et al. 1990; Cole et al. 1992; Heip et al. 1995). Nevertheless, high phytoplankton biomass concentrations are commonly observed in these environments (Kromkamp et al. 1995; Kromkamp & Peene 1995; Heip et al. 1995 and references therein). Various authors have used the "critical mixing depth" approach introduced by Sverdrup (1953) to explain this apparent contradiction (Cole et al. 1992; Fichez et al. 1992; Irigoien & Castel 1997). It is indeed well established that net phytoplankton production is determined by the ratio between euphotic and mixing depths, which are mainly controlled by pure physical forcing mechanisms (Sverdrup 1953; Grobbelaar 1985; Cloern 1987; Cole & Cloern 1987; Falkowski & Raven 1997). This control is particularly critical in turbid environments such as estuaries and coastal waters, which are often under the influence of significant particulate terrigenous fluxes (Postma 1980).

Phytoplankton production models currently incorporate an increasingly complex description of underlying biological mechanisms such as intracellular fluxes (Lancelot et al. 1986; Reid et al. 1990; Williams & Lefèvre 1996), food-web interactions (Soetaert et al. 1994; Lancelot et al. 2000), photoacclimation (Cullen & Lewis 1988; Geider et al. 1996; Geider et al. 1998). In contrast, as pointed out for instance by Fichez et al. (1992), most studies on estuarine phytoplankton production have neglected the problems of fluctuating light regime as a major controlling factor. In particular, the coupling between primary production and sediment dynamics has been overlooked in the past, partly because the study of these processes pertains to scientific disciplines that have largely evolved independently. Many authors have studied the correlation between phytoplankton production and turbidity, using the composite parameter BZE: biomass B, euphotic depth Z and solar irradiance E (Cole & Cloern 1984; Harding et al. 1986; Cole & Cloern 1987; Keller 1988; Cole 1989; Boyer et al. 1993; MacIntyre & Cullen 1996). This empirical model may explain a large part of the variability of phytoplankton production in many estuaries, especially at the seasonal scale. However, the BZE model does not rely upon one physiological basis. In particular, it lacks any description of the phytoplankton

response to light intensity (MacIntyre & Cullen 1996). More critically, it does not link the value of the euphotic depth to the suspended particulate matter (SPM) dynamics.

In this paper, the focus is on nutrient-rich, well-mixed tidal estuaries, where phytoplankton growth is not limited by nutrient availability, but where light is the crucial control factor. In such systems, it is expected that the underwater light field is not only determined by the incident solar irradiance, but also by the tidal influence on hydrodynamics and sediment transport (Wofsy 1983). Estimating the combined effect of these forcing processes on the spatio-temporal evolution of phytoplankton production is clearly not a trivial question. The scope of this study is therefore to assess how short-term, tidally driven physical forcing mechanisms interfere with the incident sunlight energy to sustain phytoplankton production in these environments. The impact of chlorophyll *a* resuspension on the estimate of depth-integrated phytoplankton production is also discussed. The paper is structured as follows: first, a simple model of phytoplankton biomass for strongly tidal, well-mixed estuaries is presented. It is then applied to an idealized case using simple periodic forcing functions, in order to highlight the main features of the systems response. Finally, more complex forcing conditions are applied, taking the Scheldt estuary (B, NL) as an example of a typical well-mixed, turbid system displaying a high dynamical suspended matter behavior (Fettweis et al. 1998).

7.2 Model description

The main purpose of this study is to investigate whether or not a positive algal growth can be sustained in a turbid, well-mixed estuary, where the mixing depth is larger than the euphotic depth. To answer this question, we hypothesize that the turbidity, and hence the light regime, is essentially controlled by local hydrodynamic conditions. In other words, the dynamics of suspended particulate matter (SPM) results mainly from local exchange fluxes with the bed through the processes of resuspension and deposition. This implies that the instantaneous current velocity is the key factor for turbidity. In addition, our focus is on the effect of local physical conditions on the sustainability of local algal growth; it is not on the effect of advective or diffusive transport on phytoplankton concentration along the longitudinal gradient. As a result, a simple box approach is adequate for our purpose.

The use of more complex transport-reaction models of the estuarine continuum (e.g. Regnier and Steefel 1999; Vanderborght et al. 2002) is therefore not required.

7.2.1 Governing equations for a well-mixed reservoir of oscillating depth

Consider a well-mixed reservoir of unit surface area, whose volume is changing with time due to the tidal variation of the depth z_{\max} (Figure 1).

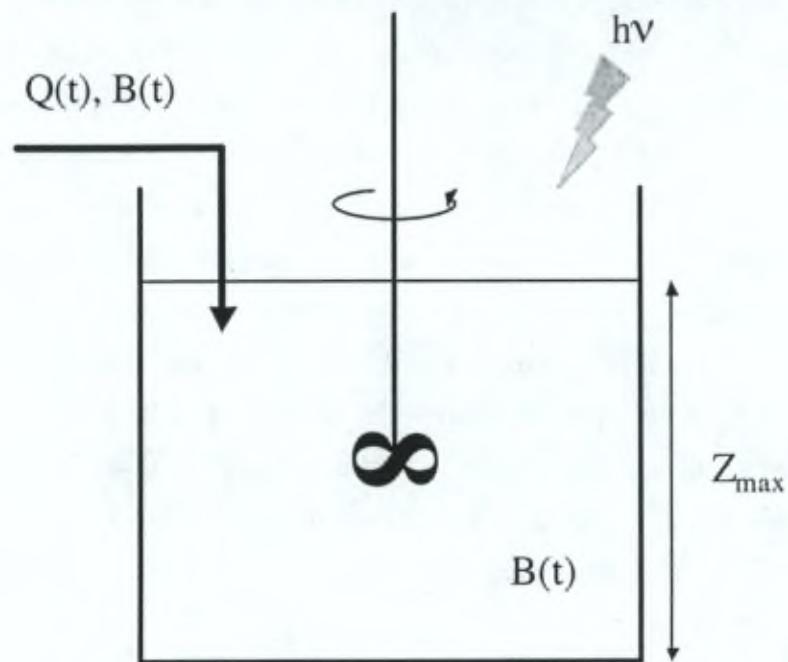


Fig. 1. Schematic representation of an oscillating-depth reservoir ($Q(t)$ = input/output flow; $B(t)$ = biomass concentration).

The volume change is caused by a flow $Q(t)$ that is either positive or negative to account for level rise and level fall, respectively. To avoid dilution effects, the water added or withdrawn always has the same composition (including biomass and SPM concentration) as the water inside the reservoir. Solar light penetrating into the water is gradually attenuated within the water column: this well-mixed system is thus 0-D with respect to space for all constituents (including turbidity), yet it is a 1-D (vertical) system for photosynthetically active radiation (PAR). As a result, the governing equation must be written in terms of the total biomass \mathcal{B} within the reservoir:

$$\frac{d\mathcal{B}}{dt} = Q B + \int_0^{Z_{\max}} r(z, t) dz \quad (1)$$

where $r(z,t)$ is the rate of phytoplankton biomass production at any time t and depth z within the reservoir. The algal biomass B is related to \mathcal{B} according to:

$$B = \frac{\mathcal{B}}{z_{\max}} \quad (2)$$

while the rate of change of the water depth is given by:

$$\frac{dz_{\max}}{dt} = Q(t) \quad (3)$$

7.2.2 Rate of algal growth

The rate r of phytoplankton biomass production is given by:

$$r = NPP - Excr - Mor \quad (4)$$

where NPP is the net primary production of phytoplankton, $Excr$ is the excretion rate (release of dissolved organic carbon) and Mor is the mortality rate of the algal cells. The net primary production is defined as:

$$NPP = GPP - Resp \quad (5)$$

where GPP is the gross primary production of phytoplankton and $Resp$ is the algal respiration rate. All rates are usually expressed in $\mu\text{gC L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

The relationship between GPP and PAR (in $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) is modeled according to Platt's equation (Platt et al. 1980; MacIntyre et al. 2002):

$$GPP = B P_{\max}^B \left(1 - e^{-\frac{\alpha^B PAR}{P_{\max}^B}} \right) \quad (6)$$

where the algal biomass B is usually given in units of $\mu\text{g Chlorophyll } a.\text{L}^{-1}$. α^B is the specific photosynthetic efficiency and P_{\max}^B is the specific light-saturation rate of photosynthesis. Values and units for these parameters are presented in table 1.

Table 1. Notation, value and units of the parameters used in the model.

Parameters	Notation	Value	Units
Specific photosynthetic efficiency	α^B	0.05	$(\mu\text{gC}.\mu\text{gChl}^{-1}.\text{h}^{-1})$, $(\mu\text{mol quanta}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$
Specific light-saturation rate of photosynthesis	P_{\max}^B	13	$\mu\text{gC}.\mu\text{gChl}^{-1}.\text{h}^{-1}$
Rate constant for maintenance respiration	ρ_m	0.002	h^{-1}
Growth respiration factor	ρ_g	0.3	none
Excretion factor	ε	0.03	none
Rate constant for mortality	m	0.002	h^{-1}
Carbon: Chlorophyll a ratio	θ	50	$\text{gC}.\text{gChl}^{-1}$
Sediment transport coefficient (scenario 1)	X	2000	$\text{mg}.\text{L}^{-1}.\text{m}^3.\text{s}^{-5}$
Sediment transport coefficient (scenario 2)	X	6000	$\text{mg}.\text{L}^{-1}.\text{m}^3.\text{s}^{-5}$
Wash load (scenario 1)	Y	40	$\text{mg}.\text{L}^{-1}$
Wash load (scenario 1)	Y	25	$\text{mg}.\text{L}^{-1}$

At least two additional processes are known to influence phytoplankton productivity: photoacclimation and photoinhibition. Experimental evidences of short-time photoacclimation, inducing changes in the photosynthetic parameters, have been previously obtained at the diel scale in turbid systems (see e.g. Harding et al. 1986 ; Prézelin 1992). However, some authors argued that in a well-mixed and turbid water column, where the light history of algal cells is highly depending on turbulent mixing (Cullen & Lewis 1988), phytoplankton is acclimated to a mean irradiance between the bottom and the surface (Demers et al. 1986; Mallin & Paerl 1992). More recently, a number of authors have tried to link this variation of the photosynthetic parameters with the internal molecular machinery of the chloroplast (Geider et al. 1997, Kana et al. 1997, MacIntyre et al. 2002, Han 2002). However, it remains difficult to transcript those detailed physiological description in the context of environmental modelling, especially when hydrodynamics is not resolved vertically (as it is the case in this paper). Also, it is

difficult to identify from the experimental data what part of photoacclimation must be attributed to the incubation process, and what part may be attributed to the natural forcings in the environment. The consensus is thus not yet reached to know how far we must consider the short-time photoacclimation in the case of a turbid and tidal estuary. Though it is not the purpose of the present paper to answer this question, we have simulated different diel-variations of the photosynthetic parameters to see how such possible changes could affect our conclusions (see end of discussion).

When subjected to surface irradiances, phytoplankton cells may suffer photo-inhibitory effects, especially when acclimated to low-light intensities (Mallin & Paerl 1992, MacIntyre & Cullen 1996). However, photoinhibition is not an instantaneous process (Melis 1999), and the time-scale for full development of photoinhibition may vary between 0.5 and 1.5 h (Pahl-Wostl and Imboden 1990). Thus, it is reasonable to assume that the response time of photoinhibition to changes in light regime is larger than the residence time of the cells near the water surface (Macedo et al. 1998). As a result, photoinhibition is ignored in equation (6). This hypothesis is obviously not valid in shallow estuaries, where light is available down to the bottom.

A proper parameterization of phytoplankton respiration term is of crucial importance for our purpose. The simplest formulation for the respiration rate (Resp) is that it is simply a constant percentage of P_{\max}^B (Steemann Nielsen & Hansen 1959). Many authors have adopted this expression, using various coefficients of proportionality for different algal species (Gilstad et al. 1993; Langdon 1993 and references therein). In light-limited environments where phytoplankton production is far from saturation, such an approach will lead to an overestimation of the respiration rate. Other formulations, which take into account intracellular mechanisms, have been proposed (Langdon 1988; Lancelot et al. 1991; Lewitus and Kana 1995; Lancelot et al. 2000) and are in agreement with laboratory measurements carried out on specific cultures of phytoplankton (Falkowski & Raven 1997). In these models, algal respiration is divided into a maintenance term (R_m) associated to basal metabolism and a growth or biosynthesis term (R_g). This approach takes into account the light-dependency of respiration. For instance, some diatoms show a respiration rate in the light almost twice as large as in the dark (Weger et al. 1989). Following Langdon (1993), R_g is expressed here as a fraction of GPP. R_m is simply proportional to the algal biomass:

$$\text{Resp} = R_m + R_g \quad (7)$$

with

$$R_m = \rho_m B \theta \quad (8)$$

and

$$R_g = \rho_g \text{GPP} \quad (9)$$

where ρ_m is the rate constant for maintenance respiration, θ is the carbon:chlorophyll *a* ratio and ρ_g (comprised between 0 and 1) is the growth respiration factor.

To model the excretion rate of dissolved organic carbon (DOC), we follow the hypothesis that it is related to photosynthesis (Mague et al. 1980; Lancelot et al. 2000). Excr is thus expressed as:

$$\text{Excr} = \varepsilon \text{ GPP} \quad (10)$$

where ε is the excretion factor. There is no typical value for ε , though common values are reported to be comprised between 0.03 and 0.2 (Malinsky-Rushansky & Legrand 1996; Hansell & Carlson 1998; Morán & Estrada 2002). We hypothesize that in a nutrient-rich and light-limited system, algae are expected to allocate the major part of recent photosynthate to the biosynthesis of cellular constituents, instead of excreting it as DOC (Otero & Vincenzini 2004). For this reason, a small ε value (0.03) has been used in the model.

The mortality of phytoplankton is described by a first order equation (Fasham 1995):

$$\text{Mor} = m B \theta \quad (11)$$

where m is the mortality rate constant. In our conceptual model, the grazing of phytoplankton is not explicitly described and is therefore included in the overall mortality term.

In well-mixed turbid waters, where light-scattering and light-absorbing particles are uniformly distributed, an approximately exponential decrease of the scalar irradiance is observed over depth (Di Toro 1978). The time and depth variations of PAR may thus be described according to:

$$\text{PAR}(z, t) = E_0(t) e^{-k_d(t) z} \quad (12)$$

where $E_0(t)$ is the surface PAR and $k_d(t)$ is the vertical attenuation coefficient for scalar irradiance (Kirk 1994). Since the system is vertically well mixed, k_d can be taken as constant within the water column. Combining equations 4 to 12 allows the computation of the rate of phytoplankton biomass production r at any time t and depth z :

$$r(z, t) = B(z, t) \left[P_{\max}^B \left(1 - e^{-\frac{\alpha^B E_0 e^{-k_d z}}{P_{\max}^B}} \right) (1 - \rho_g - \varepsilon) - (k_m + m) \right] \quad (13)$$

Substitution of $r(z, t)$ by expression (13) in equation (1) leads to an exponential-integral which has no exact solution in terms of elementary functions, and hence must be integrated numerically. As it appears from the equation above, the time dependence of $r(z, t)$ is ultimately controlled by the external forcing functions $E_0(t)$ and $k_d(t)$. The variable $z_{\max}(t)$ which appears in equation (1) introduces a supplementary forcing function with respect to time due to the tide. Internal model parameters are α^B and P_{\max}^B .

7.3 Forcing conditions

As pointed out in the previous section, three forcing functions have to be specified to compute the temporal change of phytoplankton biomass: the incident PAR $E_0(t)$, the vertical light attenuation coefficient $k_d(t)$ and the total depth $z_{\max}(t)$, which is also equal to the mixing depth, and is generally larger than the euphotic depth in strong tidal, turbid estuaries. In a first set of simulations, these parameters are expressed in terms of simple periodic functions. The purpose of this simplified setting is to advance our conceptual understanding of the mechanistic interactions between the various physical forcing functions. The incident PAR E_0 has been estimated from a classical astronomical routine, taking also into account the atmospheric absorption of incident solar energy and the ratio of PAR to total irradiance. The grey line in figure 2 shows the temporal variation of E_0 that has been used for the simulations. It is typical for a cloudless, summer period (4 to 9 July) at latitude 52°N.

Following the hypothesis that the current velocity is the key control factor for SPM and turbidity, the resulting tidal variation of the light absorption coefficient k_d is approximated by a sine function of period 6 hours 12 minutes. This value corresponds to half the period of the M2 tidal harmonic (black line, figure 2) and allows reproducing the occurrence of two turbidity minima per tidal cycle, corresponding to low- and high-water slacks.

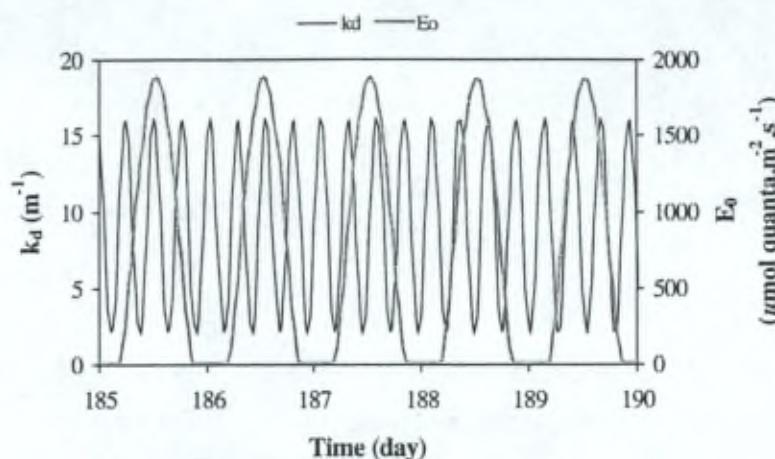


Fig. 2. Periodic forcing functions for the 1st set of simulations: light attenuation coefficient for scalar irradiance (k_d) and incident solar PAR (E_0).

Conversely, two turbidity maxima are also simulated, for maximum ebb and flood velocities respectively. The values selected for k_d (between 2 and 16 m^{-1}) are typical of turbid estuaries (Cloern 1987). The resulting variation of the euphotic depth (defined as the depth where PAR is equal to 1% of the surface value) is represented in figure 3.

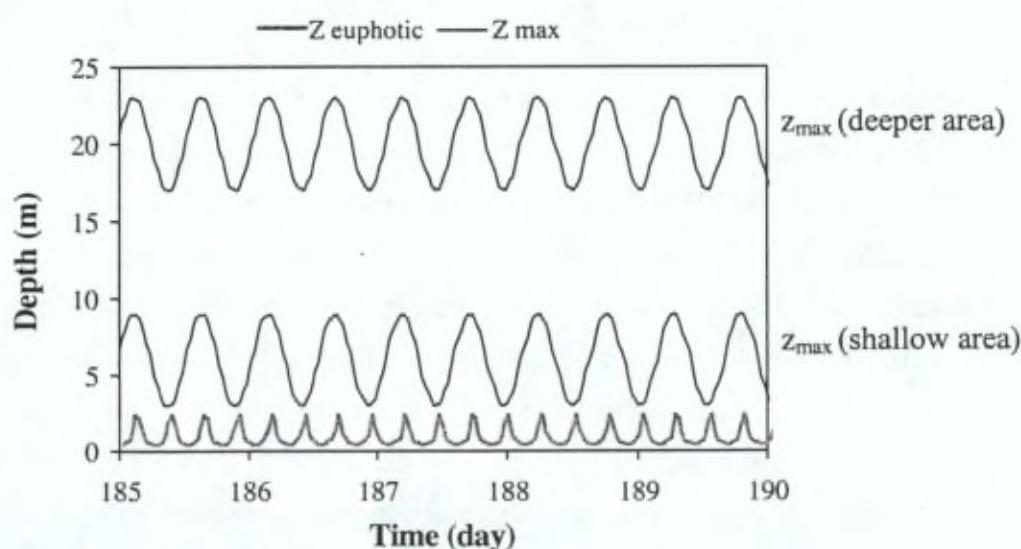


Fig. 3. Periodic forcing functions for the 1st set of simulations. Euphotic depth is taken as depth where 1% of incident light is reached. Mixing depths oscillate around value 6 m (shallow area) and 20 m (deeper area).

Finally, the mixing depth z_{\max} is also modeled using a sine function, but this time with a period 12 hours 25 minutes. A set of scenarios is considered, ranging from a relatively shallow reservoir (mean $z_{\max} = 6$ m) to deeper systems (mean $z_{\max} = 20$ m) with a tidal amplitude maintained to 6 m (figure 3). In all cases, the euphotic depth, which is comprised between 0.3 and 2.3 m, represents only a small fraction of the mixing depth.

In a second set of simulations, we introduce the influence of natural variability on the forcing functions E_0 , k_d and z_{\max} , and we investigate the consequence of this variability on the primary production. Our purpose is to verify that the first-order features obtained in the previous set of simulations remain valid when more complex situations are described. By comparing the results of these simulations with experimental observations, we also aim at a validation of the model approach. The forcing functions are now parameterized from field data and from model results obtained for the Western Scheldt estuary (Belgium- The Netherlands), which can be considered as a typical example of a macro-tidal, turbid environment (Wollast, 1988). Two situations are considered, which differ in k_d as well as in z_{\max} (the incident PAR E_0 being identical in both cases). The first situation corresponds to a shallow site (location 1, representative of the fresh water zone situated in the tidal estuary, about 110 km of the estuarine mouth), while the second situation considers a deeper area of the estuary (location 2, typical of the brackish area around the harbour of Antwerp, km 80 from the estuarine mouth). For $E_0(t)$, the same astronomical routine as above is used, but the resulting incident solar radiation is modified using a measured cloud coverage factor for temperate regions (July 1999, data supplied by IRM (1999), figure 4).

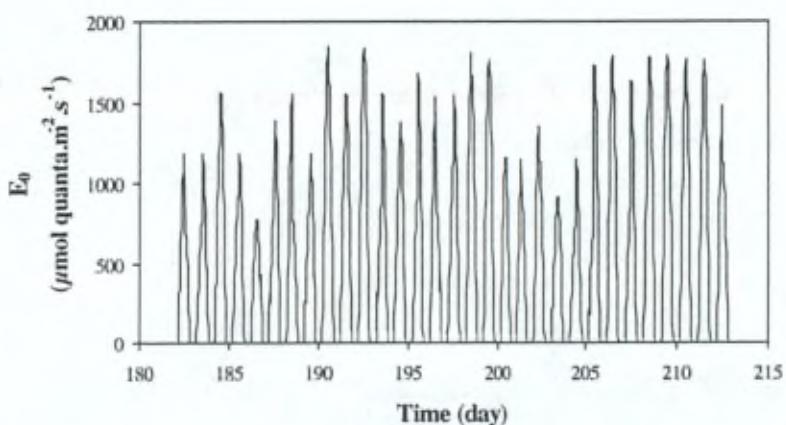


Fig. 4. Forcing functions for the 2nd set of simulations: incident solar PAR (July 1999, 52° N).

The light attenuation coefficient $k_d(t)$ has been obtained from a large number of vertical light profiles and SPM measurements conducted throughout 2002. It is expressed as an explicit function of SPM :

$$k_d = 1.4 + 0.0592 \text{ SPM} \quad (14)$$

with k_d in m^{-1} and SPM in mg.L^{-1} (figure 5).

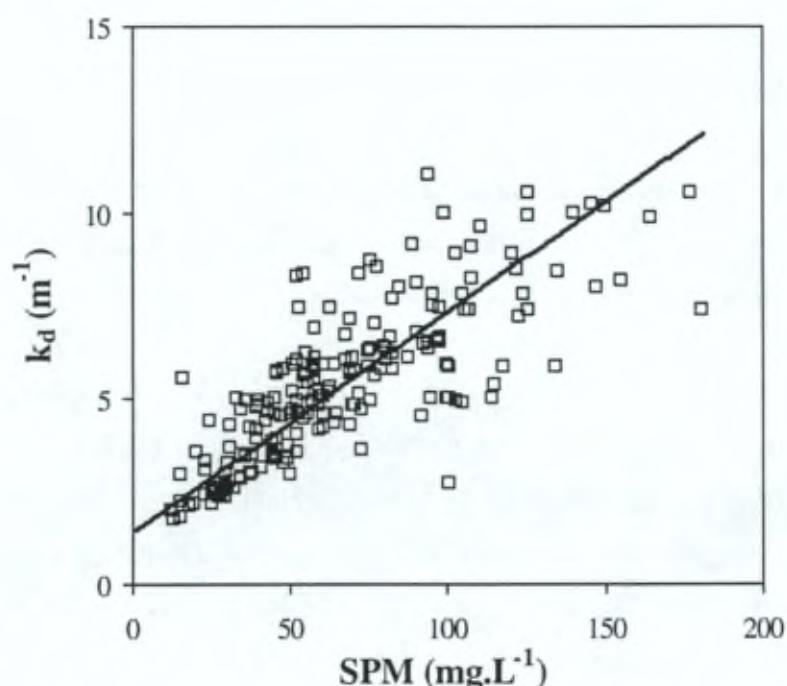


Fig. 5. Linear relationship between k_d and SPM as measured in the Scheldt estuary ($k_d = 1.4 + 0.0592 \times \text{SPM}$; $r^2 = 0.609$).

The in situ determination of the scalar absorption coefficient k_d has been performed using two spherical quantum sensors (Aquamatic AQPL-UV912) separated by a constant, known vertical distance. This technique eliminates the need for incident light compensation and allows the continuous logging of the k_d value. An example of results for the Scheldt is given in figure 6.

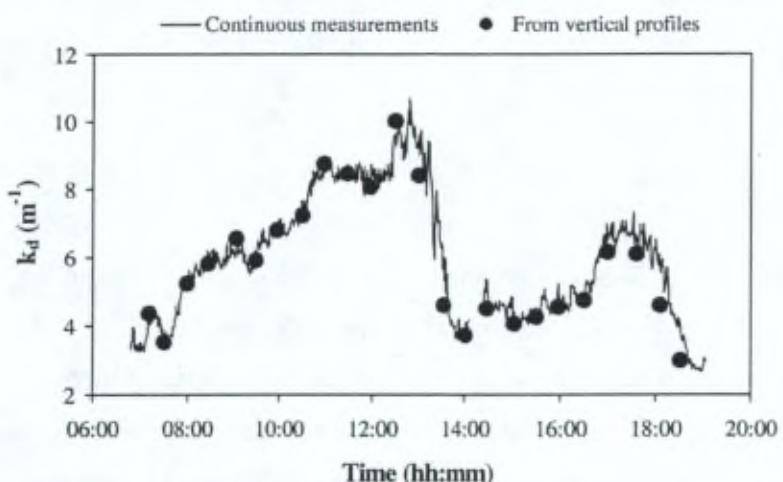


Fig. 6. Time variation of the light extinction coefficient for scalar irradiance during a complete tidal cycle (km 115, 22 August 2002).

In addition, vertical profiles of scalar irradiance have repeatedly shown that the k_d value can be considered as constant **with depth** in this well-mixed estuary, at least in the euphotic layer (figure 7).

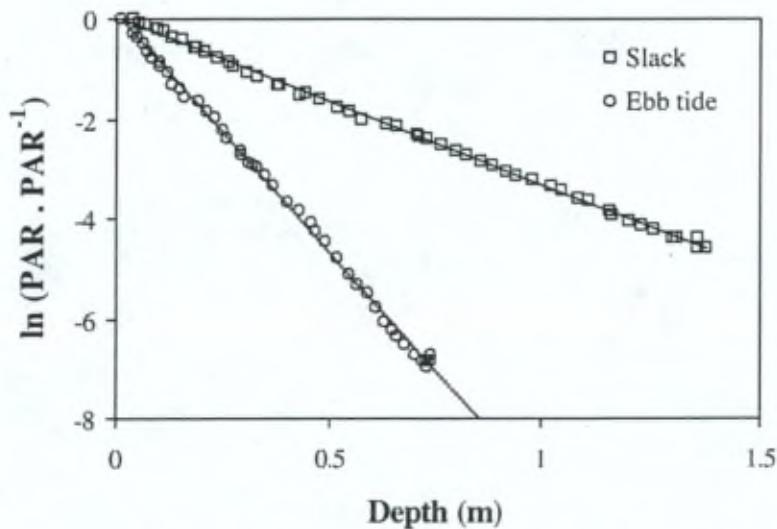


Fig. 7. Vertical profile of scalar irradiance measured in the tidal Scheldt estuary (km 115, 22 August 2002).

In the second set of simulation, the SPM concentration is estimated using the concept of maximum transport capacity, which allows expressing the particulate matter content as a function of the local instantaneous current velocity and water depth (Verbanck 2003):

$$SPM = X \frac{|u|^5}{z_{\max}^2} + Y \quad (15)$$

where $|u|$ is the modulus of the cross-sectional averaged velocity and X, Y two constants. The two variables u and z_{\max} are obtained from a one-dimensional hydrodynamic (HD) model of the Western Scheldt estuary (Regnier *et al.* 1998), which not only resolves the tidal timescale, but also incorporates the longer term neap-spring oscillation and the variation of the freshwater discharge. For the shallow zone (figure 8 a), z_{\max} is comprised between 4 and 9 m; in the deeper area (figure 8 b), a z_{\max} value varying between 10 and 16 m is used.

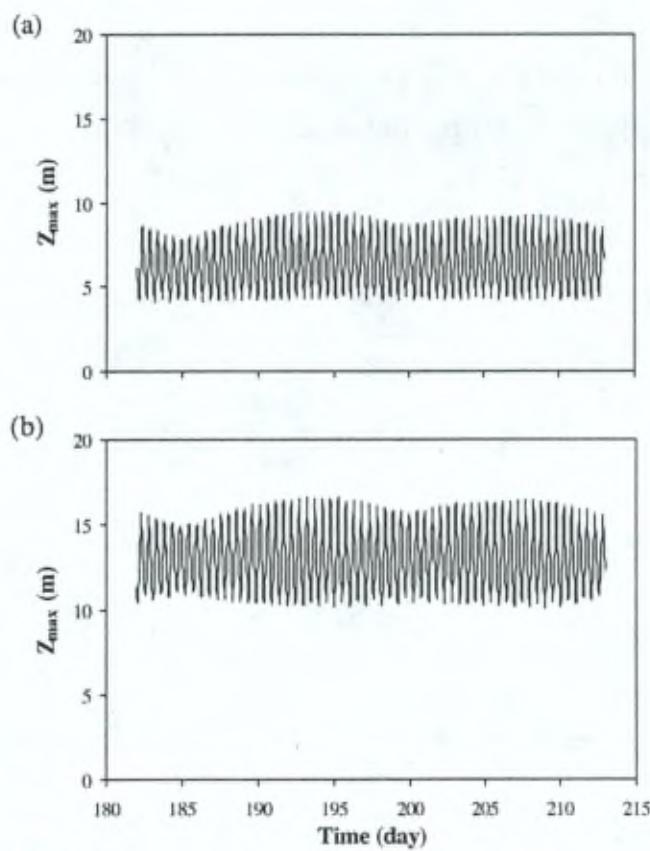


Fig. 8. Computed mixing depth for the 2nd set of simulations: (a) shallow area, (b) deeper area.

In equation (15) above, the constant term Y corresponds to the finer particulate material, which always stays in suspension in the water column (wash load). The coefficient Y is essentially dependent on the nature of the suspension, which can vary along the estuarine gradient. In order to reproduce the SPM concentration range commonly observed in the two areas, distinct values for the constants (X, Y) have been used for the simulation: $X=2 \times 10^3$ and $Y=40$ for the shallow, freshwater tidal estuary; $X=6 \times 10^3$ and $Y=25$ for the deeper, brackish region. The resulting variations of k_d for both situations is represented in figure 9.

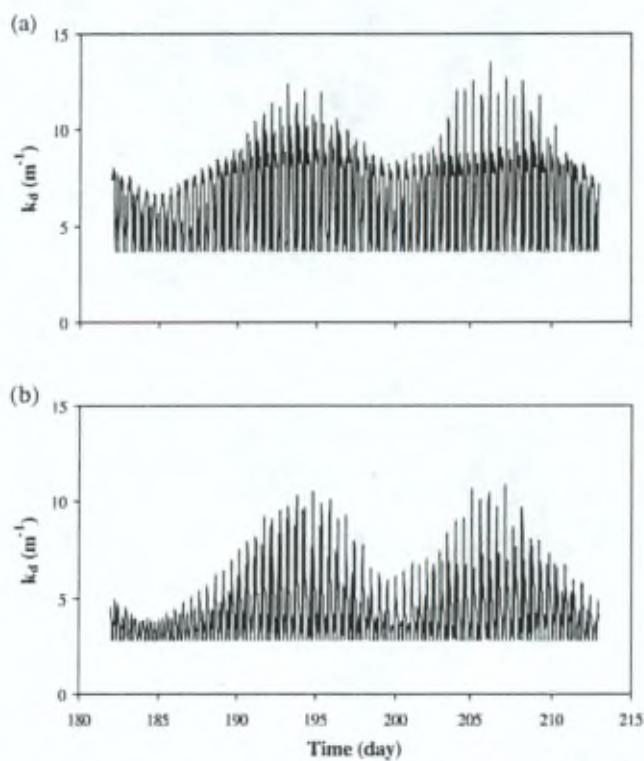


Fig. 9. Computed light attenuation coefficient for the 2nd set of simulations: (a) shallow area, (b) deeper area.

Despite its simplicity, this approach provides a realistic first-order description of the SPM and k_d dynamics, as shown by the comparison between the turbidity measured at a monitoring station located in a zone of high SPM content (km 80 from the mouth) and the results of a simulation carried out for the same location (figure 10 b and c). Two peaks per tidal cycle can be observed, corresponding to maximum ebb and flow velocities. The very fast settling of suspended solids at slack water is another salient feature of the observed and modelled SPM dynamics.

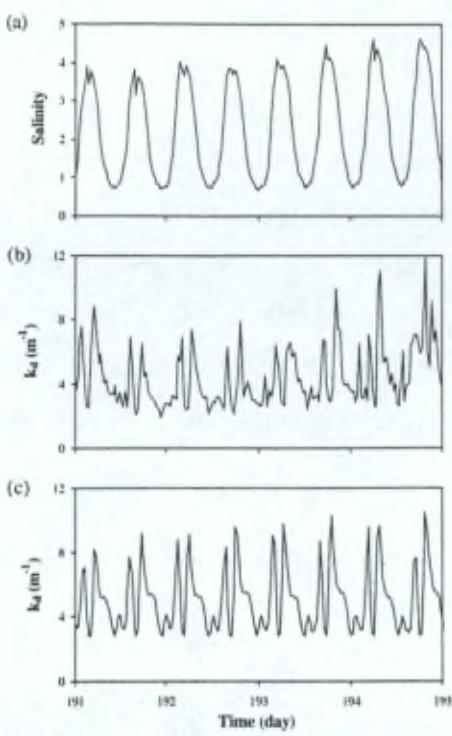


Fig. 10. Variation of (a) salinity and (b) the light attenuation coefficient as measured at a monitoring station in the Scheldt estuary (km 80, 10 to 14 July 1998). (c) Computed variation of the light attenuation coefficient (km 80, 10 to 14 July 1998).

Because the tidal velocities computed by the HD model are essentially similar in the shallow and deeper areas, the SPM, and hence the k_d , differ mainly via the influence of z_{\max} , according to equation (15). Comparing figures 9a and 9b shows indeed that the resulting k_d is on average higher at the shallow site than at the deeper site. In both cases, the water depth and the light attenuation coefficient are strongly modulated by the spring-neap oscillations.

7.4 Dynamics of phytoplankton growth

7.4.1 First set of simulations

The results of the simulations obtained when using simple, periodic forcing functions for E_0 , k_d and z_{\max} are synthesized in figures 11 to 13. Figure 11 shows the time evolution of the PAR, 20 cm below the water surface. A complex temporal pattern is obtained, which results from the modulation of $E_0(t)$ by $k_d(t)$. Because these two signals have different

frequencies, the underwater PAR shows two or three daily peaks with a progressive phase shift in the daily maximum. This idealized simulation demonstrates that the maximum underwater PAR is most of the time not synchronized with solar noon: synchronism with solar noon ($\pm \frac{1}{2}$ hour) actually occurs every 6 to 7 days, as a result of the interaction between lunar (tide) and solar (night-day) forcing functions.

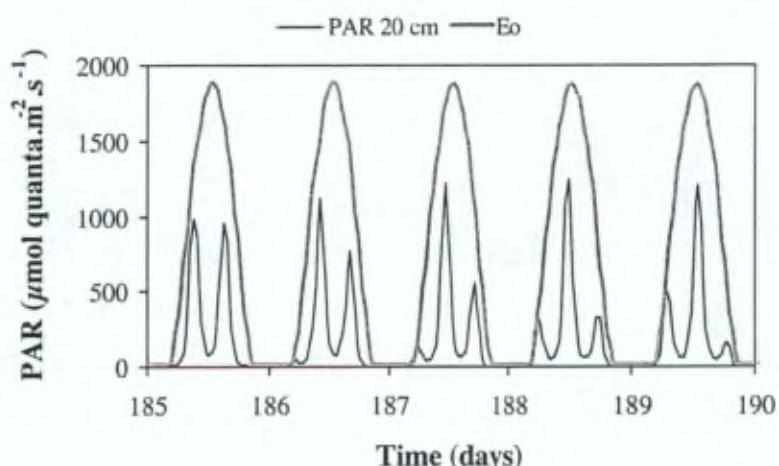


Fig. 11. Simulated incident solar light (PAR) at the surface of the water column and computed PAR at a 20 cm depth from 4 to 9 July.

Similar dynamics are predicted for the depth-integrated gross phytoplankton production (GPP_z). It is illustrated in figure 12 (black line), a result that is valid for the whole set of simulations because the water depth is always greater than the euphotic depth.

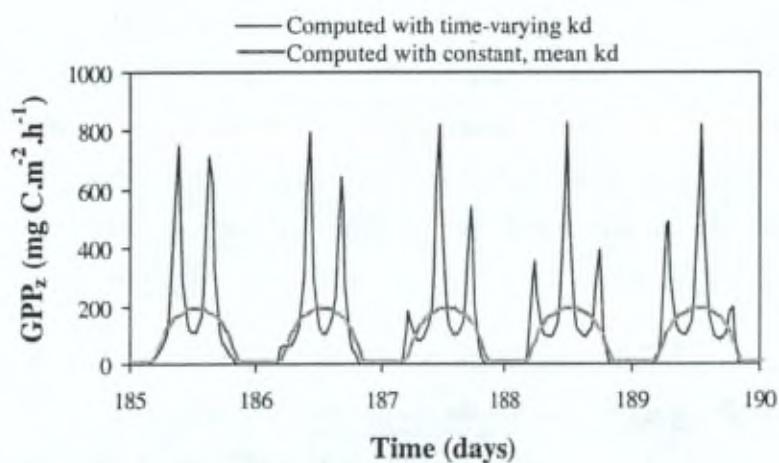


Fig. 12. Depth-integrated gross primary production (GPP_z) from 4 to 9 July. GPP_z computed using a time-varying k_d value and GPP_z computed using a constant, mean k_d value.

However, the non-linear relationship between GPP and PAR (equation 6) tends to flatten the multiple productivity peaks within one day. The simulation leads to the rather unexpected result that, in some instances (e.g. day 185), the highest instantaneous depth-integrated GPP may occur at 9 a.m. and again at 3 p.m. (solar time), although the incident solar light is far from its maximum at these moments. A very different response is predicted if an average k_d value is used for the simulation (figure 12, grey line). Obviously, the GPPz is then directly related to the time evolution of $E_0(t)$. More importantly, the depth- and time-integrated GPP is significantly different whether a time dependent or a constant mean k_d value is used. In the latter case, the integrated value over one month is lower by a factor of 30%. This is of course a consequence of the non-linear relationship between GPP and k_d .

One may argue that sedimentation and resuspension mechanisms, that control the SPM dynamics, could affect similarly phytoplankton cells. In some estuaries, short-term variations of chlorophyll *a* have been observed simultaneously with changes in turbidity (Demers et al. 1987; de Jonge & van den Bergs 1987; Cloern et al. 1989; Litaker et al. 1993; Lucas 2003). MacIntyre & Cullen (1996) even conclude that the decrease in mean irradiance caused by resuspension is compensated for by a concomitant increase in suspended chlorophyll *a*, and hence has a negligible influence on GPPz estimates. However, chlorophyll *a* resuspension is only reported in shallow estuaries (< 2.5 m) or in the shallower areas of deeper estuaries (such as tidal flats < 60 cm), where benthic diatoms may often be found. In this paper, we examine systems where the mixing depth is predominantly greater than the euphotic depth, a condition that is not extremely favourable to the development of benthic microalgae (Muylaert et al. 2002). To verify this assumption, simultaneous measurements of turbidity and chlorophyll *a* have been performed at various depths in the Scheldt estuary (oligo- and mesohaline regions) during a number of tidal cycles. These measurements have never shown any strong, positive correlation between SPM and chlorophyll *a*, suggesting that, in this type of environment, short-term variations in phytoplankton concentration are essentially due to the advection of water masses, rather than to phytoplankton settling and resuspension.

The effect of z_{\max} on the net phytoplankton growth is illustrated in figure 13 for the whole set of scenarios. As z_{\max} increases, the processes responsible for phytoplankton decay (maintenance respiration and mortality) become gradually predominant in the value of r (equation 13).

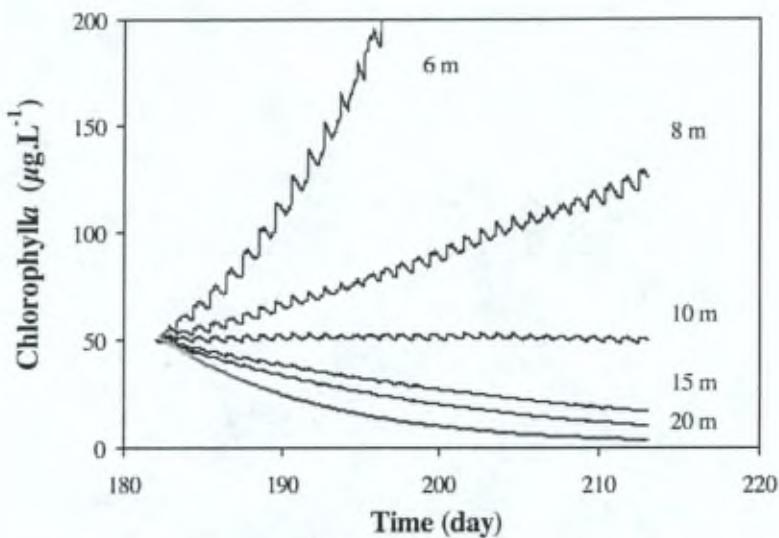


Fig. 13. Evolution of the net algal biomass (chlorophyll *a*) computed over a 30-days period. Mean z_{\max} varies from 6 m to 20 m. Grey line corresponds to a situation with no production (exponential decrease).

As a result, the phytoplankton biomass shows an increasing pattern in the shallow reservoirs scenarios, while it approaches a typical exponential decrease in the deep reservoirs scenarios. For the same reason, daily oscillations are noticeable when the euphotic to mixing depth ratio is high. They tend to be progressively damped out when this ratio decreases.

7.4.2 Second set of simulations

The application of simplified periodic forcing functions to the case of a well-mixed, oscillating-depth reservoir gives a conceptual understanding of the coupling between sediment dynamics, light climate in the water column and phytoplankton production. To advance one step further in the analysis, more complex forcing functions are now considered. They are typical of two locations within the Scheldt estuary, *i.e.* the brackish, deep area around the harbour of Antwerp (km 80) and the fresh water, shallow zone situated in the tidal estuary, about 40 km upstream from the former.

Longitudinal profiles of SPM and of k_d show a strong landwards decrease of the water transparency (figure 14). However, the complexity of the forcing functions and of their temporal interactions makes the direct interpretation of this pattern rather difficult.

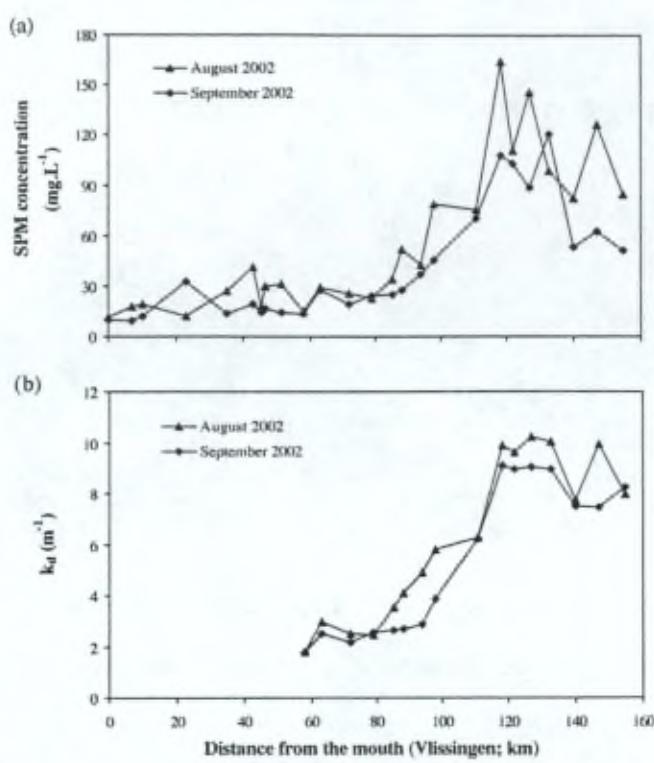


Fig. 14. Longitudinal distribution of (a) suspended solids concentration and (b) light attenuation coefficient along the Scheldt estuary. Location 1 (shallow area) is at km 120 and location 2 (deeper area) is at km 80.

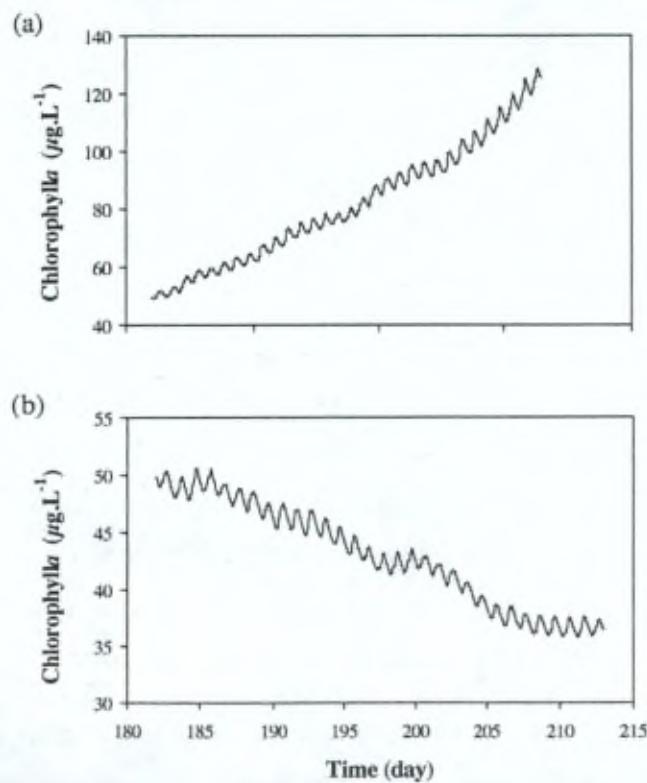


Fig. 15. Net chlorophyll *a* evolution during a 30-days simulation (a) for the shallow area and (b) for the deeper area.

Indeed, when applying our reservoir model to both selected locations, a positive net phytoplankton growth is predicted at the more turbid one (location 1, figure 15 a), whereas a negative net phytoplankton growth is simulated at location 2, in spite of the lower SPM concentration (figure 15 b). In the absence of longitudinal transport, our model predicts a three-fold increase in algal biomass (expressed as chlorophyll *a* concentration) over a one-month period at location 1. In contrast, the chlorophyll *a* value is reduced by a factor of about 30% at location 2 within the same period. The main reason for this behaviour originates from the difference in z_{\max} at both sites, location 2 displaying a mean water depth approximately twice as large as the value at location 1. These results are in agreement with the rapid drop in chlorophyll *a* concentration that is observed between the two locations (Figure 16). They are consistent with the hypothesis that the euphotic to mixing depth ratio is the principal controlling factor of phytoplankton dynamics in this type of estuary.

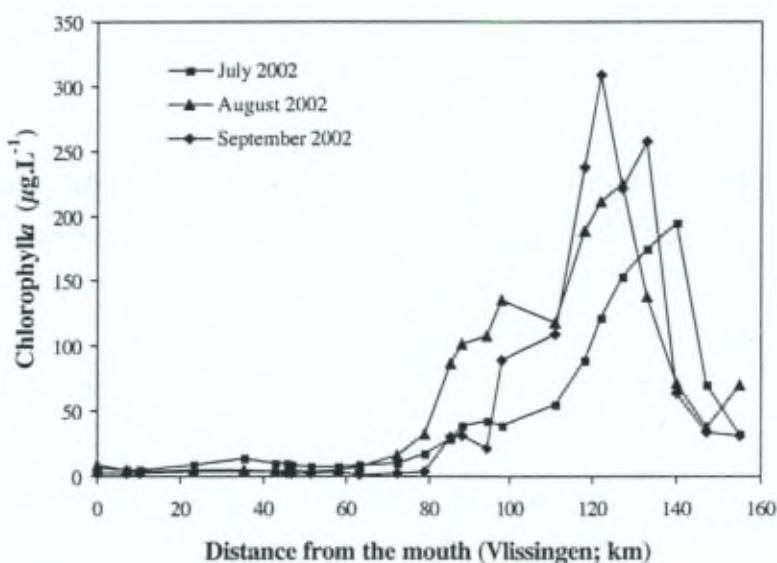


Fig. 16. Longitudinal profile of chlorophyll *a* concentration along the Scheldt estuary. Location 1 (shallow area) is at km 120 and location 2 (deeper area) is at km 80.

To evaluate the effect of a short-time photoacclimation on GPP and NPP, we considered a sinusoidal variation of α^B and P_{\max}^B , both having a period of 24 hours and an amplitude equal to 40% of the constant value in table 1. We have tested the case of a peak for photosynthetic parameters in late morning-noon (see Prézelin 1992), and inversely the case of a minimum in late morning-noon (see Harding et al. 1986). A diel-variation of α^B and P_{\max}^B significantly affect phytoplankton growth during the month. When

photosynthetic parameters exhibit a maximum value at noon, the model predicts a four-fold increase in algal biomass over a one-month period at location 2, and a slight decrease in chlorophyll *a* at location 1. On the other hand, if photosynthetic parameters exhibit a minimum value at noon, then chlorophyll *a* concentration increases by only 50 % at location 2 over a month, and it decreases by 50 % at location 1. Depending on the diel pattern taken into account, photoacclimation may thus enhance or reduce the phytoplankton production, but the overall conclusion remain unaffected. Interestingly, considering the possible effect of photoacclimation even reinforces the importance of using a time-dependent k_d instead of a constant mean value. It has already been shown (see 1st set of simulation) that the month-integrated GPPz computed with a time-dependent k_d was 30 % higher than the value obtained using an average k_d . When considering a diel-variation of α^B and P_{max}^B , this difference between the month-integrated GPPz's increases from 30 to 67 % when photosynthetic parameters exhibit their minimum value at noon, and to 75 % when they exhibit a peak at noon.

7.5 Conclusions

A number of hypothesis have been invoked to explain the well recognized phytoplankton decay that is often observed along the longitudinal salinity gradient of turbid, macro-tidal estuaries. Among those, factors such as salinity stress, zooplankton grazing and light limitation due to the presence of a turbidity maximum, have been advocated (Soetaert et al. 1994; Kromkamp & Peene 1995; Vanderborght et al. 2002). In this paper, we have shown that a net positive phytoplankton production can be sustained in areas of high turbidity, as long as the euphotic to mixing depth ratio remains sufficiently high. Conversely, deeper areas exhibiting lower turbidity might not be able to support a net biomass production, independently of any other biogeochemical influences. We have also demonstrated that the interplay between tidal and nyctemeral oscillations has to be resolved at least at the hourly timescale. This is a direct consequence of the different frequencies of the physical forcing functions (E_0 , k_d , z_{max}), which results in a complex pattern of phytoplankton production at this timescale. Comparison between simulations using temporally resolved and averaged forcing functions indicate that the latter approach leads to significant errors in the estimation of estuarine productivity.

Acknowledgements

We wish to thank Didier Bajura, Michèle Loijens and Nathalie Roevros for their participation in analytical work and field missions. The support of the "Administratie Waterwegen en Zeewezen" of the Ministry of the Flemish Community and of the MUMM (Management Unit of the Mathematical Model of the North Sea, Royal Belgian Institute of Natural Sciences) is gratefully acknowledged. This research has been supported by the E.U. project EUROTROPH (EVK3-CT-2000-00040). The Belgian FRIA ("Fonds pour la Recherche dans l'Industrie et l'Agriculture") and the "Fondation Baron Van Buuren" have granted the work of one of the authors (X.D.).

Chapitre 8

Distribution spatio-temporelle du phytoplancton dans l'estuaire de l'Escaut : résultats d'un modèle bi-dimensionnel de transport-réaction

Introduction

Les estuaires jouent un rôle complexe dans le flux des matières particulaires et dissoutes vers la zone côtière. Les sédiments, le phytoplancton, les nutriments, ..., ne sont pas simplement véhiculés le long de l'estuaire, mais ils participent à un grand nombre de transformations biogéochimiques. Les modèles couplés transport-réaction intègrent une description des processus hydrodynamiques et du comportement des espèces non-conservatives, et sont donc particulièrement appropriés pour dépeindre les systèmes complexes tels que l'estuaire de l'Escaut. Par opposition aux modèles basés sur la circulation résiduelle des masses d'eau à l'échelle de la marée, les modèles tidaux impliquent la prise en compte des variations à court terme des forçages extérieurs (débit d'amont, élévation tidale de la hauteur d'eau, fluctuation des conditions aux limites) (Regnier et al. 1998).

Un modèle¹ bidimensionnel ou "2D" (intégré sur la profondeur) a été mis en oeuvre pour décrire les dynamiques de transport et de réaction des espèces dissoutes et particulières dans l'estuaire de l'Escaut, et pour estimer les flux de matières terrigènes vers la Mer du Nord. La partie "production phytoplanctonique" de ce modèle a été développée dans le cadre du présent travail. La description fine de la bathymétrie d'une part, et la prise en compte détaillée de la variation temporelle de hauteur d'eau d'autre part, permettent d'affiner le calcul de la production algale nette dans l'estuaire de l'Escaut. Les résultats de simulation présentés illustrent la dynamique de croissance et la distribution des algues phytoplanctoniques. La sensibilité du modèle à une variation de la valeur des paramètres

¹ Ce modèle résulte d'une collaboration entre le Service de Traitement des Eaux et Pollution (ULB), le Laboratoire d'Océanographie Chimique et Géochimie des eaux (ULB), le groupe « Reactive Transport Modeling » (Faculty of Geosciences, University of Utrecht, NL) et le Danish Hydraulic Institute (DK) (voir Folmer et al., in preparation).

photosynthétiques est examinée, ainsi que la réponse des principales variables par rapport aux conditions aux limites. Dans cette optique, trois simulations ont été menées pour tenter de représenter la situation observée au cours de 1990, et 2000, et celle prévue pour 2010.

8.1 Présentation générale du modèle

8.1.1 Partie hydrodynamique

Le modèle utilisé est basé sur le logiciel Mike 21 développé par le DHI dont on utilise la version "emboîtée" ("nested"). Le modèle de l'Escaut s'étend depuis Gand jusqu'à la baie sud de la Mer du Nord. Il décrit également les affluents (Dendre, Durme, Grande et Petite Nete, Senne et Dyle) jusqu'à la limite amont de l'influence de la marée. L'estuaire est subdivisé en cinq zones emboîtées, chacune étant caractérisée par sa propre grille spatiale (figure 8.1). Ce découpage permet d'adapter la résolution spatiale aux dimensions caractéristiques locales, et de limiter ainsi le temps de calcul nécessaire. La taille du maillage augmente graduellement de 33 x 33m dans la partie eaux douces, à 100 x 100m dans la région saumâtre, 300 x 300m à l'embouchure et dans la plume, 900 x 900m dans la région côtière, et 2700 x 2700m en pleine mer.

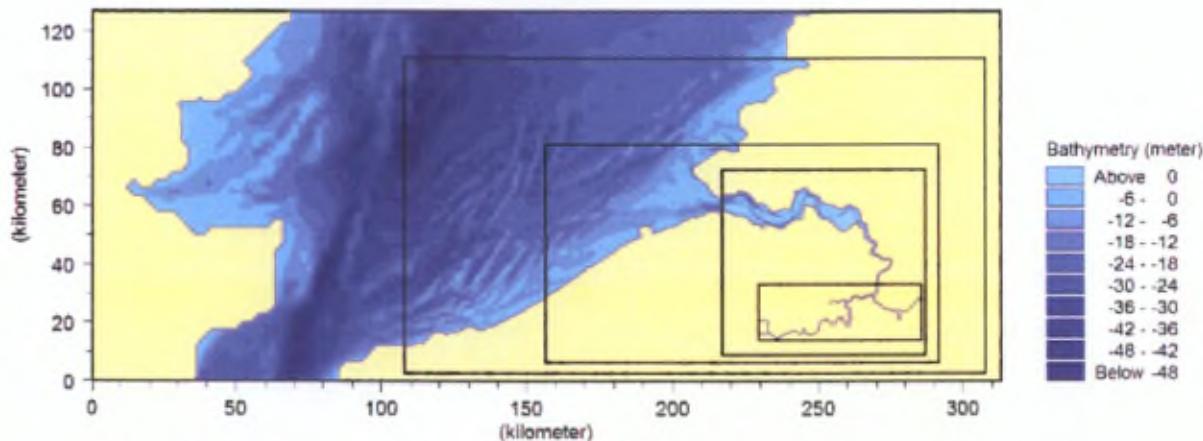


Figure 8.1: Extension géographique et bathymétrie des 5 compartiments emboîtés du modèle

Le module hydrodynamique (HD) calcule les conditions hydrodynamiques en chaque point de grille (i.e. la hauteur d'eau et les deux composantes horizontales de la vitesse moyenne du courant sur la verticale). Le modèle s'appuie sur une description bathymétrique précise, et prend donc en considération le détail des chenaux de flot et de

Le modèle présenté ici est un outil pour décrire à l'aide de paramètres simples les transferts de matière entre compartiments organiques et inorganiques, ainsi que la distribution de la biomasse phytoplanctonique dans l'estuaire selon une approche qui implique à la fois les stocks de biomasse, et les flux de production et de transport. Il a été montré dans les chapitres précédents que, dans l'estuaire de l'Escaut, la production phytoplanctonique dépend essentiellement de l'influence des forçages physiques. Les autres facteurs tels que la disponibilité des nutriments (N et P), un éventuel contrôle "top-down" par le zooplancton, ou les interactions entre espèces de phytoplancton, par exemple, peuvent être considérés comme d'importance secondaire. Mais nous gardons à l'esprit que nous faisons ainsi l'impasse sur d'autres aspects tels que la variation interspécifique des paramètres photosynthétiques, ou le potentiel nutritionnel des microalgues pour le zooplancton. De plus, la situation marine nécessite à terme une approche multispécifique (Lancelot et al. 1997).

Dans l'estuaire de l'Escaut, les diatomées constituent l'espèce dominante tout au long de l'année dans les régions d'eaux douces et d'eaux saumâtres, ainsi qu'en mer durant le printemps (Muylaert et Sabbe 1999 ; Muylaert, Sabbe et al. 2000). C'est pourquoi les diatomées ont été choisies comme l'espèce représentative de la biomasse algale dans l'estuaire. Comme elles sont consommatrices de silice, elles présentent une dynamique de croissance qui peut occasionnellement dépendre de ce nutriment supplémentaire, lequel est spécifiquement pris en considération dans le modèle.

8.2.2 Calcul de la production brute intégrée sur la profondeur

8.2.2.a Approximation sur l'exponentielle de Platt

La dépendance de la production phytoplanctonique brute (GPP) par rapport à la lumière est décrite à partir de l'équation de Platt (1980) (cf. chapitre 2). L'équation 8.1 permet de calculer la GPP à chaque profondeur de la colonne d'eau en fonction de la turbidité (cf. chapitre 7) :

$$\text{GPP} (z, t) = B \cdot P_{\max}^B [1 - \exp(-\alpha^B \cdot E_0 \cdot \exp(-k_d \cdot z) / P_{\max}^B)] \quad (8.1)$$

où B est la biomasse phytoplanctonique, P_{\max}^B la vitesse spécifique de photosynthèse maximum, α^B l'efficience photosynthétique, E_0 l'irradiance solaire en surface (PAR), k_d le coefficient d'atténuation verticale de la lumière dans l'eau, t le temps, et z la profondeur.

L'intégrale de l'équation 8.1 sur la profondeur est du type « exponentielle intégrale » (éq. 8.2) qui n'admet pas de solution analytique :

$$y(x) = \int a \cdot \exp(b \cdot \exp(c \cdot x)) \cdot dx \quad (8.2)$$

L'intégration de la GPP sur la profondeur (éq. 8.3) doit donc se faire par résolution numérique pour obtenir la production phytoplanctonique brute intégrée (GPP_z).

$$GPP_z(t) = B \cdot \int_0^{Z_{\max}} GPP(z,t) \cdot dz \quad (8.3)$$

où $Z_{\max}(t)$ est la profondeur totale de la colonne de mélange. Dans ce modèle de l'estuaire de l'Escaut, Z_{\max} est assimilée à la hauteur d'eau et subit l'influence des marées au cours du temps.

Dans le modèle, l'intégration de la GPP doit être effectuée à chaque pas de temps et en chaque point de la grille spatiale. Ceci représente plus de 100 000 intégrations numériques par pas de temps, et rallonge considérablement le temps de calcul. La solution apportée consiste à retrouver une méthode d'intégration analytique de la GPP au prix de quelques approximations. Dans une première approche, l'équation de Platt a été linéarisée, c'est-à-dire remplacée par deux droites (i.e. pente à l'origine et plateau de P^B_{\max}). L'intégration de cette fonction sur la profondeur pendant un mois donne une erreur relative d'environ 35 % par rapport à l'intégration numérique, en raison de l'imprécision sur l'estimation de la GPP aux irradiances proches de E_k (i.e. P^B_{\max}/α^B ; voir figure 8.2).

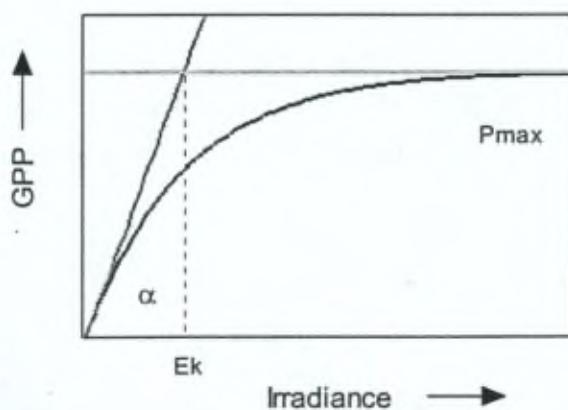


Figure 8.2 : GPP en fonction de l'irradiance. Le remplacement de la courbe de Platt par deux droites constitue une mauvaise approximation pour des irradiances proches de E_k .

jusant. Par contre, la colonne d'eau de l'estuaire est considérée comme bien mélangée verticalement, ce qui justifie le choix d'un modèle 2D horizontal intégré sur la profondeur. L'avantage de la description hydrodynamique à 5 compartiments est double : (a) l'ensemble du continuum rivière-estuaire-mer est décrit en conservant une échelle de résolution spatiale adaptée, (b) l'extension du modèle en amont et en aval de la zone estuarienne proprement dite restreint grandement l'influence, sur cette zone, de la variation temporelle des conditions aux limites. Parallèlement au module HD, un module d'advection-dispersion (AD) couplé au précédent permet de calculer le transport de toutes les espèces concernées (Folmer 2003 ; Folmer et al. to be submitted).

8.1.2 Processus biogéochimiques

La description des réactions biogéochimiques suit un schéma identique à celui utilisé dans un modèle 1D de l'estuaire développé précédemment (modèle CONTRASTE, Regnier et al. 1997 ; Vanderborght et al. 2002). Le modèle 2D fait appel à la routine ECOLab du DHI, dont la principale caractéristique est d'offrir à l'utilisateur la possibilité de construire facilement son propre ensemble de variables d'état et de processus¹. Il s'agit d'un solveur d'équations différentielles qui est relié aux deux modules HD et AD. Les différents processus, forçages et variables d'état implantés dans le module biogéochimique sont repris dans la table 8.1.

Les deux principaux processus biologiques de production et de consommation du carbone organique pris en considération sont la production phytoplanctonique et la respiration bactérienne hétérotrophe. Pour les bilans d'azote, nous avons pris en compte l'ammonification, la nitrification et la dénitrification. Une attention spéciale a été consacrée à la production phytoplanctonique pour laquelle une description plus fine est proposée. En particulier, le phytoplancton est le seul acteur biologique dont la biomasse est une variable. De manière générale les valeurs des paramètres cinétiques intervenant dans les équations du modèle résultent d'estimations directes (basées sur des expériences cinétiques en laboratoire) ou indirectes (d'après les données de la littérature). A l'exception de quelques cas, ces paramètres n'ont pas été utilisés à des fins d'ajustement du modèle.

¹ Informations détaillées sur www.dhisoftware.com/ecolab

Variables d'état	Forçages	Processus
Matière organique	Température	Production phytoplanctonique
Oxygène dissous	Vitesse de courant horizontale*	Consommation de silice
Ammonium	Hauteur d'eau*	Mortalité phytoplanctonique
Nitrate		Dégradation aérobie
Silice dissoute		Dénitrification
Biomasse phytoplanctonique		Nitrification
Salinité		Echange d'oxygène entre la colonne d'eau et l'atmosphère

Table 8.1 : Variables d'état, forçages et processus implantés dans le modèle (* forçages calculés par le module HD). Ils ne sont pas tous détaillés dans ce chapitre. Pour de plus amples informations, voir Folmer (2003).

8.2 Module phytoplanctonique

8.2.1 Choix d'une espèce

En ce qui concerne le phytoplancton, notre premier objectif est d'en cerner la dynamique générale (zones productives, vitesse de développement, consommation des nutriments, impact sur l' O_2 dissous,...), et d'en décrire l'évolution temporelle et longitudinale dans l'estuaire de l'Escaut. Dans son état actuel de développement, le modèle n'inclut qu'une seule espèce phytoplanctonique pour deux raisons :

- Nous voulons conserver un nombre restreint de variables d'état afin de minimiser autant que possible les paramètres d'ajustement. Cela facilite la validation et l'interprétation des résultats de simulation, par ailleurs rendues difficiles à cause de l'hydrodynamique complexe de l'estuaire.
- Le but poursuivi n'est pas d'élaborer un modèle écologique décrivant la composition et la succession des espèces phytoplanctoniques dans le temps et dans l'espace.

8.2.2.b Développement en série de l'exponentielle

La fonction exponentielle présente un développement en série dont la précision dépend du nombre de termes retenus. Après un changement de variable, l'équation 8.3 devient :

$$GPP_z = B \cdot P_{\max}^B \int_{\psi_{\text{bot}}}^{\psi_0} (1 - e^{\psi}) / (k_d \cdot \psi) \cdot d\psi \quad (8.4)$$

Où $\psi = \psi_0 \cdot \exp(-k_d \cdot z)$

$$\psi_0 = \psi(z=0) = -\alpha^B \cdot E_0 / P_{\max}^B$$

$$\psi_{\text{bot}} = \psi(z=z_{\max}) = \psi_0 \cdot \exp(-k_d \cdot z_{\max})$$

Après développement en série de Taylor autour de $\psi = 0$, l'intégrale prend la forme :

$$GPP_z = B \cdot P_{\max}^B / (k_d) \cdot \int_{\psi_{\text{bot}}}^{\psi_0} [1 + \psi/2! + \psi^2/3! + \psi^3/4! + \dots] \cdot d\psi \quad (8.5)$$

dont la solution limitée aux 7 premiers termes s'écrit :

$$\begin{aligned} GPP_z = & B \cdot P_{\max}^B \cdot (\psi_0 - \psi_{\text{bot}} + (\psi_0^2 - \psi_{\text{bot}}^2)/4 + (\psi_0^3 - \psi_{\text{bot}}^3)/18 + \\ & (\psi_0^4 - \psi_{\text{bot}}^4)/96 + (\psi_0^5 - \psi_{\text{bot}}^5)/600 + (\psi_0^6 - \psi_{\text{bot}}^6)/4320 + \\ & (\psi_0^7 - \psi_{\text{bot}}^7)/35280) / k_d \end{aligned} \quad (8.6)$$

Les tests montrent qu'un développement limité au septième degré donne des résultats satisfaisants en comparaison de l'intégration numérique. La substitution de l'intégration numérique par l'expression analytique issue du développement en série diminue le temps de calcul d'un facteur supérieur à 10.

Le problème de cette approximation est que sa précision diminue lorsque ψ s'éloigne de zéro, ce qui est le cas lorsque, par exemple, la profondeur z et le coefficient k_d sont petits. L'approximation est donc moins bonne dans toutes les régions peu profondes de l'estuaire.

8.2.2.c Fonction gamma

Alors que la méthode précédente consiste à faire une approximation sur la fonction de Platt avant son intégration, une alternative¹ est de trouver une approximation de

¹ Développée en collaboration avec D. Aguilera (Université d'Utrecht).

l'exponentielle intégrale elle-même. Pour plus de clarté, l'équation 8.4 peut être réécrite comme suit :

$$GPP_z = B \cdot P_{\max}^B \int_{E_{\text{bot}}}^{E_0} [1 - \exp(-\alpha^B \cdot E / P_{\max}^B)] / (k_d \cdot E) \cdot dE \quad (8.7)$$

où E est l'irradiance (PAR) à la profondeur z , E_0 est l'irradiance à la surface, et E_{bot} est l'irradiance au fond de la colonne d'eau. Après quelques manipulations cette intégrale donne une expression faisant intervenir la fonction gamma incomplète $\Gamma(0, x)$ (Press et al. 1986) :

$$GPP_z = B \cdot P_{\max}^B / (k_d) \cdot [\Gamma(0, \alpha^B \cdot E_0 / P_{\max}^B) - \Gamma(0, \alpha^B \cdot E_{\text{bot}} / P_{\max}^B) + (k_d \cdot z_{\max})] \quad (8.8)$$

Selon la valeur de l'argument x , la fonction $\Gamma(0, x)$ peut être approchée grâce aux développements en série suivants (Abramowitz et Stegun 1965) :

$$F(x) = -(\ln(x) + \gamma) - (-x + x^2/2.2! - x^3/3.3! + x^4/4.4! - x^5/5.5! + \dots), \text{ pour } 0 < x \leq 1$$

$$F(x) = \exp(-x) \cdot (1 / (x+1 - (1 / (x+3 - (4 / (x+5 - (9 / (x+7 - (16 / (x+9 - \dots))))))))), \text{ pour } x \geq 1$$

où $\gamma = 0.5772156649$ est la constante d'Euler. On peut montrer que l'utilisation d'un développement au cinquième degré conduit à une erreur relative maximum de l'ordre de 0.1% dans le calcul des fonctions $F(x)$. C'est donc ce développement au cinquième ordre que nous avons utilisé dans le modèle, ce qui permet de réduire le temps de calcul tout en conservant une excellente précision sur toute la gamme de variation de l'irradiance.

8.2.3 Calcul de la production phytoplanctonique nette

Dans le modèle, la production phytoplanctonique nette (NPP) est calculée selon le principe exposé au chapitre 7.

$$NPP = GPP_z / (z_{\max}) - \text{resp. de biosynthèse} - \text{excrétion} - \text{resp. de maintenance}$$

où la NPP est exprimée en [$\mu\text{mol C} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$], la respiration de biosynthèse et l'excrétion sont des fonctions de la GPP, et la respiration de maintenance est une fonction de la biomasse. Il faut noter que dans le modèle la GPP_z [$\mu\text{mol C} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$] est exprimée par unité de surface et doit donc être divisée par la profondeur de mélange (z_{\max}) pour être utilisée dans l'équation de la production phytoplanctonique nette qui est exprimée par unité de volume.

8.2.4 Interaction entre la production, les nutriments et l'oxygène dissous

8.2.4.a Limitation par la silice

Dans le modèle, seule la limitation de la photosynthèse par la silice dissoute est prise en considération. L'azote inorganique se trouve en concentration suffisamment importante dans l'estuaire de l'Escaut pour qu'il ne soit pas limitant (cf. chapitre 3). Toutefois, au voisinage de l'embouchure et dans la zone côtière, l'azote peut devenir limitant pour la production phytoplanctonique. Au stade présent, le rôle limitant de l'azote n'est pas encore modélisé. La limitation par la silice est introduite dans le calcul de la GPP, au moyen d'un facteur de limitation de type Menten-Michaelis :

$$\text{fact(Si)} = [\text{Si}] / ([\text{Si}] + K_{m\text{Si}})$$

où $[\text{Si}]$ est la concentration en silice dissoute et $K_{m\text{Si}}$ la constante de limitation de la croissance phytoplanctonique par la silice.

8.2.4.b Consommation des nutriments et production d'oxygène

La consommation des nutriments par le phytoplancton est proportionnelle à la NPP_{tot}. En effet, les nutriments servent à la biosynthèse des molécules complexes (telles que les protéines pour l'azote) et participent donc à la croissance nette du phytoplancton (Lancelot et al. 1986). L'assimilation d'azote est calculée à partir d'un rapport de Redfield, qui caractérise la composition élémentaire du phytoplancton. Pour la silice, bien que son utilisation par les diatomées ne suive pas nécessairement l'assimilation de carbone (Claquin et al. 2002), nous faisons l'approximation que son incorporation peut également être calculée à partir d'un rapport de Redfield Si/C que nous choisissons égal au rapport N/C (Sarthou et al. 2005). Selon que le phytoplancton utilise le nitrate ou l'ammonium comme source d'azote, la production nette d'oxygène photosynthétique est différente, selon les deux équations ci-dessous :



Lorsque les deux espèces azotées sont présentes, il est admis que le phytoplancton incorpore préférentiellement l'azote ammoniacal. En effet, l'azote sous forme de nitrate doit être réduit au prix de NADPH et d'ATP (Geider et MacIntyre 2002, Behrenfeld et al. 2004) avant d'être assimilé sous forme organique. Pour le développement d'une même biomasse phytoplanctonique, une population disposant d'azote ammoniacal dépense donc

moins d'électrons photosynthétiques et d'énergie qu'une population ne disposant que de nitrates. Pour tenir compte de cette préférence, on introduit dans le modèle un facteur de pondération tel que la vitesse d'assimilation du nitrate tend vers zéro lorsque la concentration en ammonium augmente.

8.3 Résultats et discussion

8.3.1 Comparaison avec les résultats de modélisation

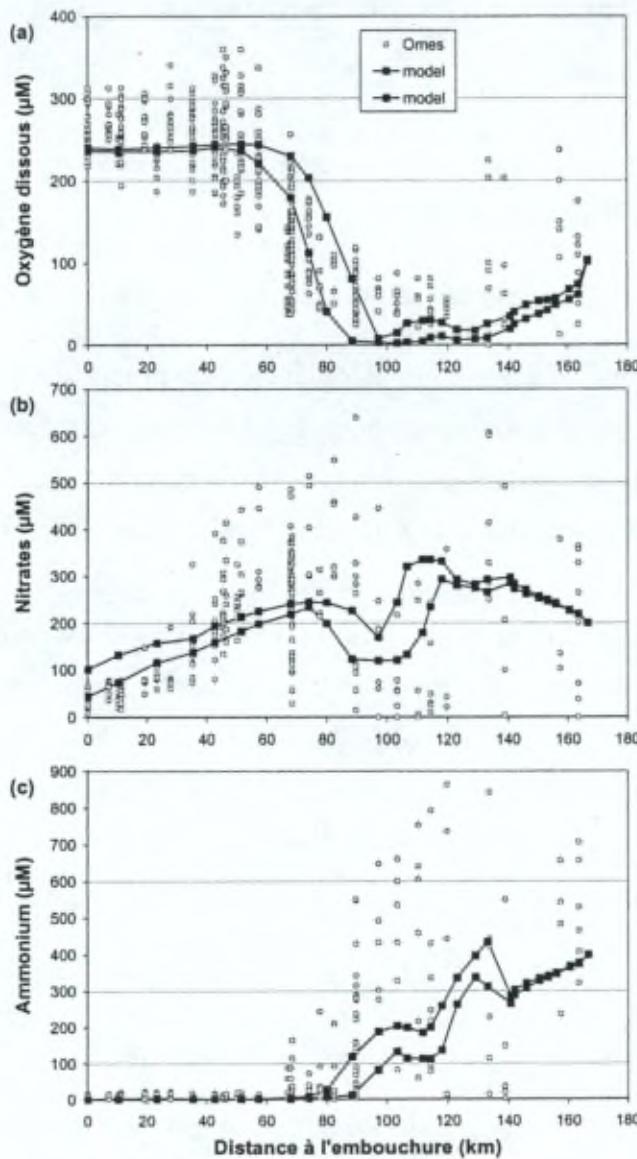


Figure 8.3: Résultats de simulation dans l'estuaire de l'Escaut d'une situation typique correspondant à une période estivale des années 1990 pour (a) l'oxygène dissous, (b) les nitrates et (c) les ions ammoniums. Les deux courbes limitent l'enveloppe de la variation temporelle (min-max). Les cercles gris représentent les données de terrain.

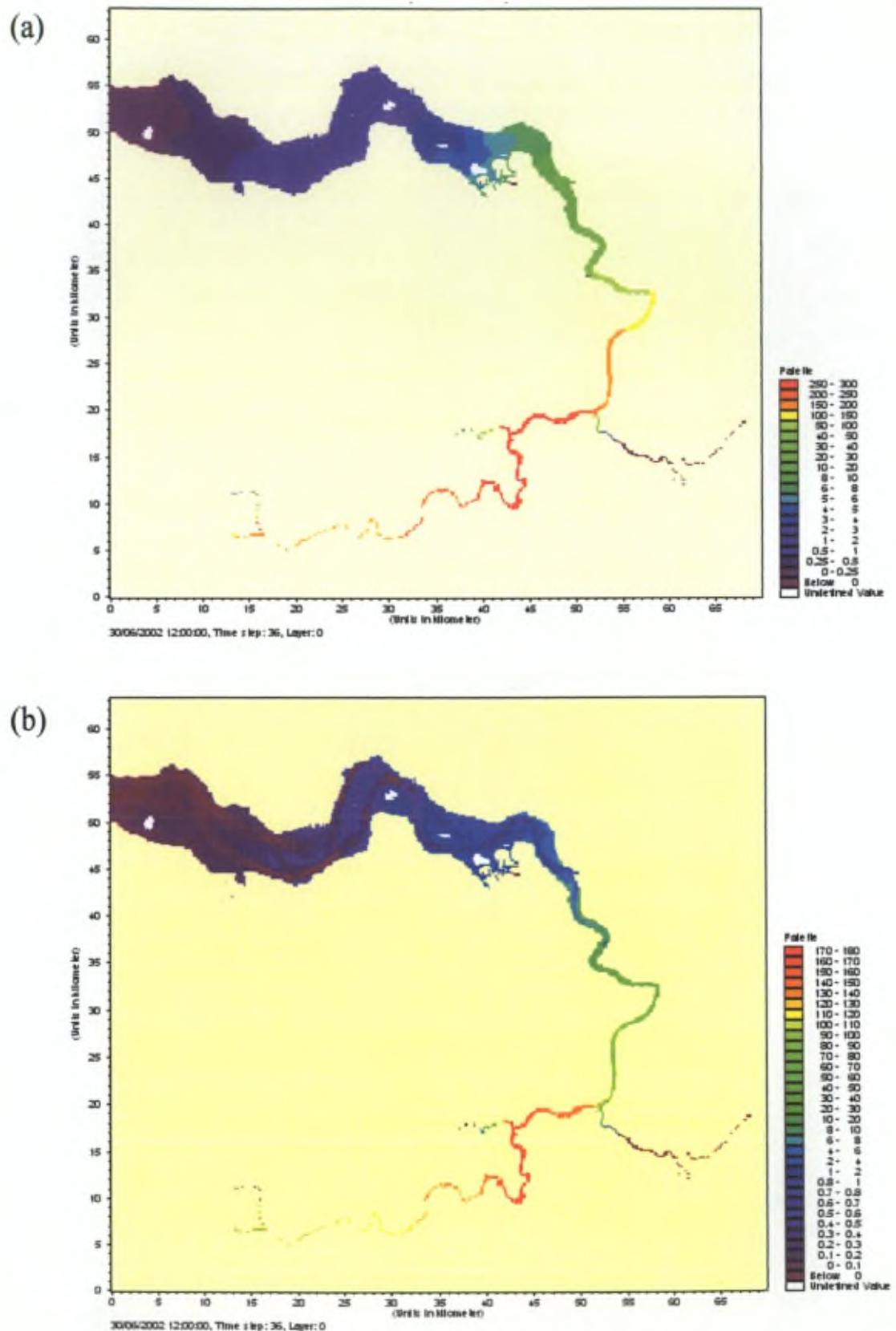
Les résultats de modélisation ont été comparés à une série de données de terrain, recueillies notamment au cours des campagnes OMES (Maris et al. 2003). La comparaison est cependant rendue difficile pour deux raisons : 1) l'inadéquation entre une description bidimensionnelle des variables et les résultats de terrain référencés selon la seule dimension longitudinale, 2) l'incertitude de la plupart des mesures quant à l'instant exact du prélèvement par rapport au cycle de marée.

Ensemble, les trois variables d'état présentées à la figure 8.3 recouvrent la plupart des processus décrits dans le modèle. Elles sont donc prises comme variables témoins dans l'exercice de validation. Si l'on fait abstraction de la très grande dispersion des mesures de terrain, les évolutions longitudinales des trois variables modélisées respectent dans les grandes lignes les tendances observées. En particulier, on relève l'augmentation de la concentration en oxygène dissous à l'aval du km 90, lorsque l'essentiel de l'ammonium a été transformé en nitrate. D'autres résultats montrent qu'à cet endroit la matière organique est également largement consommée. On note aussi au km 100 l'appauvrissement en oxygène dissous qui est lié à l'arrivée des eaux du Rupel dans l'estuaire.

8.3.2 Production et biomasse phytoplanctoniques

En vertu des conclusions précédentes (chapitres 3 et 7), la production phytoplanctonique est essentiellement limitée par le rapport z_{eu} / z_{mix} ¹ dans cet estuaire. Pour cette raison, les variations tidales de la profondeur de mélange et de la profondeur euphotique devraient être prises en compte pour une estimation correcte de la production phytoplanctonique. A l'heure actuelle, cependant, seule la variation tidale de la profondeur de mélange est calculée par le modèle. L'estimation des variations rapides de la profondeur euphotique implique en effet la description fine du transport de sédiments en suspension, qui n'est actuellement qu'au stade de développement (Wollast et al. 2001; Verbanck 2003 ; Verbanck 2004; Larcy 2004).

¹ z_{eu} et z_{mix} sont les abréviations utilisées pour la profondeur euphotique et la profondeur de mélange.



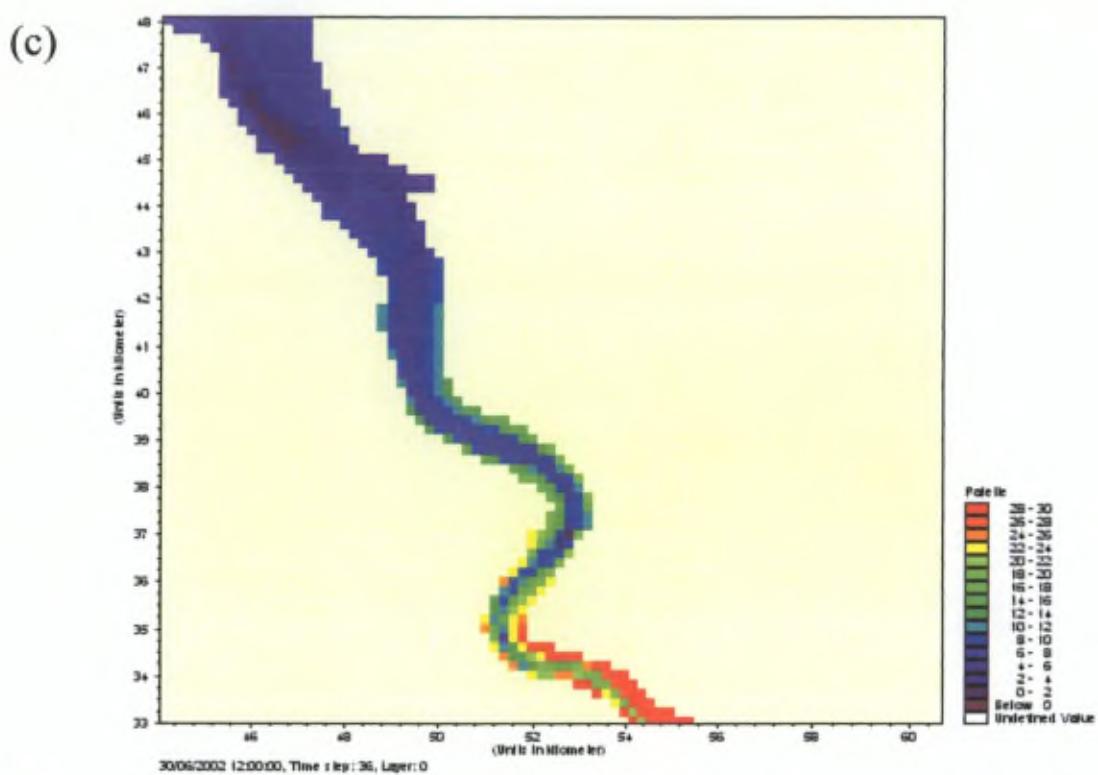


Figure 8.4 : Distribution de l'intensité de la production phytoplanctonique (a) brute et (b) nette dans l'estuaire de l'Escaut, un jour de juin à midi (situation 1990). (c) Agrandissement de la figure 8.4 b. Les productions sont exprimées en $\text{mmol-C} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{jour}^{-1}$.

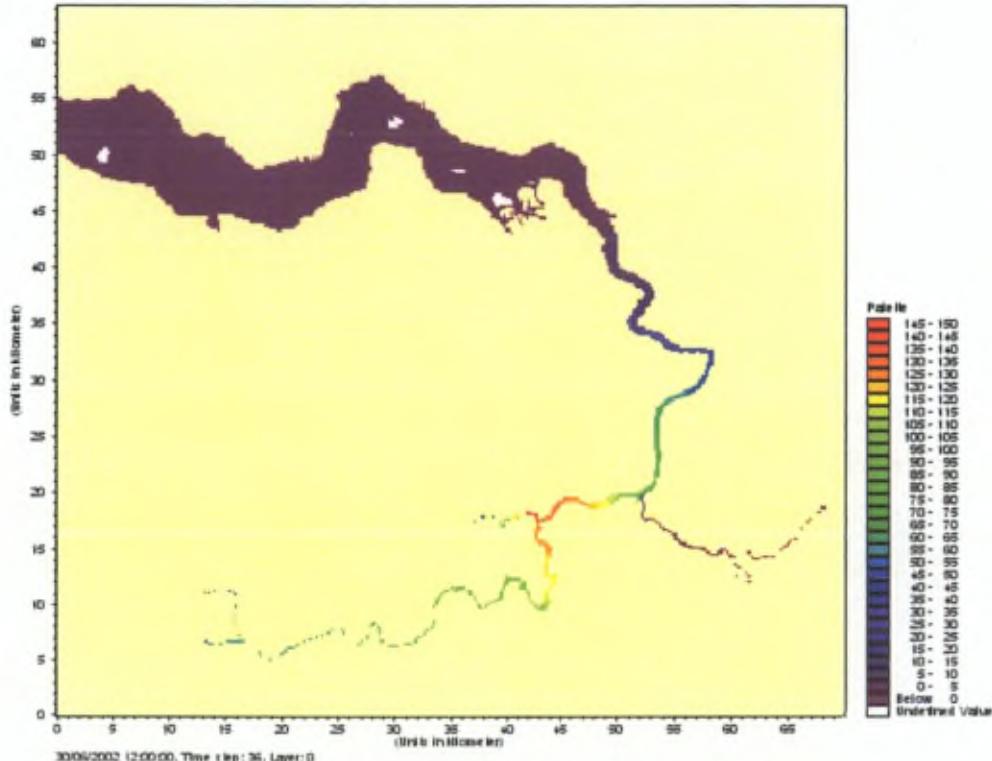


Figure 8.5 : Distribution de la biomasse phytoplanctonique ($\mu\text{M-C}$) dans l'estuaire de l'Escaut, un jour de juin à midi (situation 1990).

La figure 8.4 représente l'intensité de la production phytoplanctonique brute (a) et nette (b), à midi un jour de juin. La figure 8.5 représente la biomasse phytoplanctonique au même moment dans l'estuaire. La production brute est, comme on peut s'y attendre, importante partout où la biomasse est élevée : la relation entre la GPP et la biomasse est en effet linéaire (voir chapitre 2). La production nette, quand à elle, est élevée partout où la profondeur de mélange est faible. La biomasse algale est donc produite majoritairement aux abords des berges (figure 8.4 c), et dans la région amont où le rapport z_{eu} / z_{mix} est favorable à la production nette. La comparaison de la distribution horizontale de la NPP et de la biomasse phytoplanctonique prouve que le phytoplancton est transporté depuis les zones peu profondes, où la croissance est possible, vers les zones plus profondes, par exemple le chenal central. Par conséquent, la biomasse algale s'homogénéise et décroît, par effet de dilution, lorsque la profondeur augmente (figure 8.5).

8.3.3 Sensibilité des variables au changement des paramètres photosynthétiques

Au stade présent, le modèle ne prévoit pas de variation à court terme des paramètres photosynthétiques. Au chapitre 7, il a été avancé que les processus de photoacclimatation et de photoinhibition sont fortement réduits dans l'estuaire de l'Escaut, en raison de la turbidité et de la circulation verticale rapide des masses d'eau. En revanche, il a été montré au chapitre 3 que les paramètres photosynthétiques peuvent varier sur de plus grandes échelles de temps, par exemple en fonction de la température. Nous avons voulu tester les effets d'un changement des paramètres photosynthétiques sur la production de biomasse, ainsi que sur les autres variables du modèle. La figure 8.6 présente les résultats d'une simulation où les paramètres photosynthétiques α^B et P_{max}^B sont respectivement multipliés par un facteur 2 et 3. Les conditions aux limites sont celles des années 2000.

Pour le premier jeu de paramètres photosynthétiques, on observe une augmentation continue de la biomasse depuis l'amont jusqu'aux alentours du km 115 (figure 8.6 a). La biomasse décroît ensuite jusqu'à une valeur minimum, atteinte au km 70, et qui se maintient jusqu'à l'embouchure. L'augmentation de la valeur des paramètres photosynthétiques induit une variation forte de la biomasse entre les km 115 et 160 (figure 8.6 b). Dans cette région, la concentration en biomasse passe d'environ 60 à 360 $\mu\text{M-C}$ (c'est-à-dire de 15 à 90 $\mu\text{g-chloro.L}^{-1}$). Il est intéressant de constater que, malgré la différence entre les développements du phytoplancton dans la partie amont, la distribution longitudinale de la biomasse algale à partir du km 115 et jusqu'à la mer (km 0) reste approximativement la même pour les deux simulations. Donc, une amélioration des performances photosynthétiques provoque essentiellement une augmentation de biomasse

dans une région limitée de l'estuaire, à savoir la région des eaux douces d'amont. Cette région est d'ailleurs caractérisée par de faibles profondeurs de mélange (3-5 m), ce qui la rend propice à soutenir une floraison algale (voir figure 8.4 b). Apparemment, quelle que soit l'intensité de la floraison en amont, la région alentour du km 100 constitue une barrière au-delà de laquelle la production nette ne permet plus une augmentation de biomasse en raison des profondeurs de mélange. Ces résultats sont en accord avec les conclusions du chapitre 7.

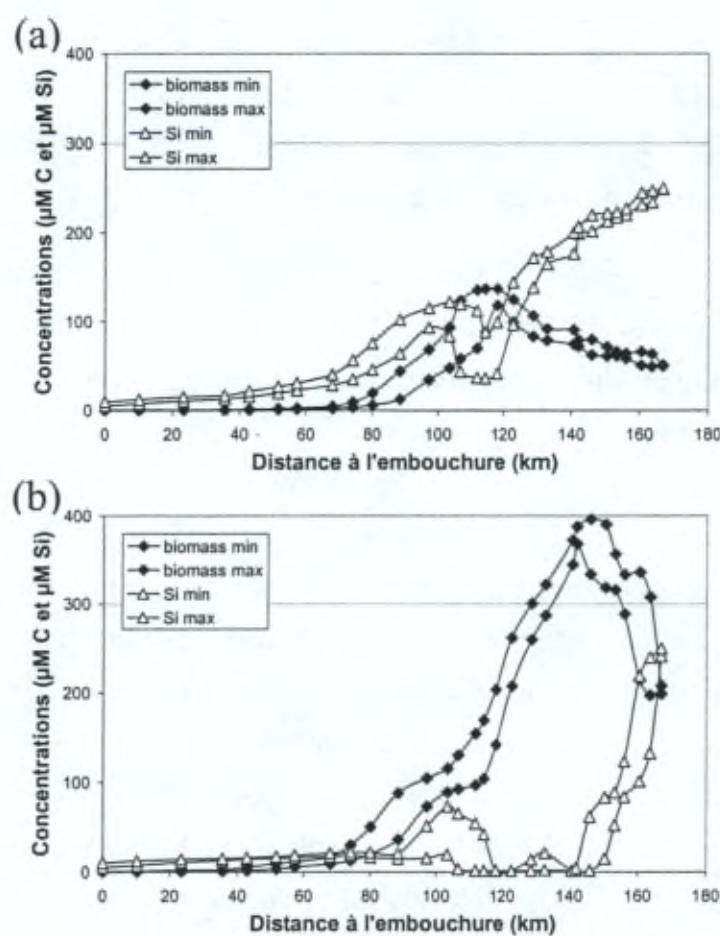


Figure 8.6 : Evolutions longitudinales de la biomasse phytoplanctonique (losanges) et de la silice dissoute (triangles) dans l'estuaire de l'Escaut, au mois de juillet (années 2000). (a) Simulation où α^B et P_{\max}^B valent respectivement $0.05 \mu\text{gC}.\mu\text{gChl}^{-1}.\text{h}^{-1}(\mu\text{E}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$ et $10 \mu\text{gC}.\mu\text{gChl}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (1^{er} scénario). (b) Simulation identique avec α^B et P_{\max}^B valant respectivement $0.10 \mu\text{gC}.\mu\text{gChl}^{-1}.\text{h}^{-1}(\mu\text{E}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$ et $30 \mu\text{gC}.\mu\text{gChl}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (2^{ème} scénario). Les deux courbes limitent l'enveloppe de la variation temporelle (min-max).

Il est intéressant de constater que, lorsqu'on augmente la valeur des paramètres PE, le maximum de biomasse se déplace vers l'amont (depuis le km 115 jusqu'au km 145). Ce déplacement peut être interprété grâce aux profils de concentration en silice dissoute livrés par le modèle (figure 8.6 a et b). Pour de faibles valeurs des paramètres PE, la silice est partiellement consommée sans jamais devenir limitante pour la production phytoplanctonique. Dans ce cas, la biomasse se développe de manière continue depuis le km 160 jusqu'au km 115. Dans la deuxième simulation, la silice est consommée beaucoup plus rapidement dans la région d'amont (km 110-160). La faible concentration en silice dissoute limite la croissance phytoplanctonique à l'amont, et entraîne la décroissance rapide de la biomasse à partir du km 145. On peut en revanche tenir pour sûr que la production phytoplanctonique n'est pas limitée par la disponibilité en silice entre le km 110 et le km 80, grâce à l'arrivée des eaux du Rupel (km 100). Cela renforce notre hypothèse que la chute de chlorophylle *a* à cet endroit est bien due à un changement des conditions d'exposition du phytoplancton à la lumière.

Les effets d'un tel changement dans le développement du phytoplancton, suite à la variation des paramètres photosynthétiques, sont présentés à la figure 8.7 pour l'ammonium et l'oxygène dissous. Pour tenter une analyse simple des profils de biomasse phytoplanctonique (figure 8.6), d'ammonium et d'oxygène dissous (figure 8.7) dans l'estuaire amont, nous comparons pour chaque variable les pentes des courbes obtenues dans les deux scénarios entre les km 165 et 145. Cette analyse confirme qu'à l'amont, la biomasse croît de façon plus importante dans le 2^{ème} scénario (pente $\sim 10 \mu\text{MC}.\text{km}^{-1}$) que dans le premier (pente $\sim 1.2 \mu\text{MC}.\text{km}^{-1}$), soit une différence de pente de l'ordre de $9 \mu\text{M-C}.\text{km}^{-1}$. Ce différentiel se marque directement sur l'évolution de la concentration en ammonium. Dans les deux scénarios, la décroissance observée entre les km 160 et 120 peut être attribuée à la nitrification. Dans le 2^{ème} scénario, la décroissance est plus rapide : on passe d'une pente $\sim -1.7 \mu\text{M-N}.\text{km}^{-1}$ à une pente $\sim -3 \mu\text{M-N}.\text{km}^{-1}$, soit une différence de l'ordre de $1.3 \mu\text{M-N}.\text{km}^{-1}$. Comparée à la valeur de $9 \mu\text{M-C}.\text{km}^{-1}$ obtenue par la même procédure de calcul pour le carbone, cette valeur pour l'ammonium donne un rapport $\Delta\text{C}/\Delta\text{N}$ égal à 6.9, très voisin du rapport de Redfield $\text{C}/\text{N} = 106/16 = 6.6$. Ceci confirme que malgré une augmentation considérable de l'activité phytoplanctonique, la photosynthèse n'est pas limitée par l'ammonium à cet endroit de l'estuaire (entre les km 165 et 145).

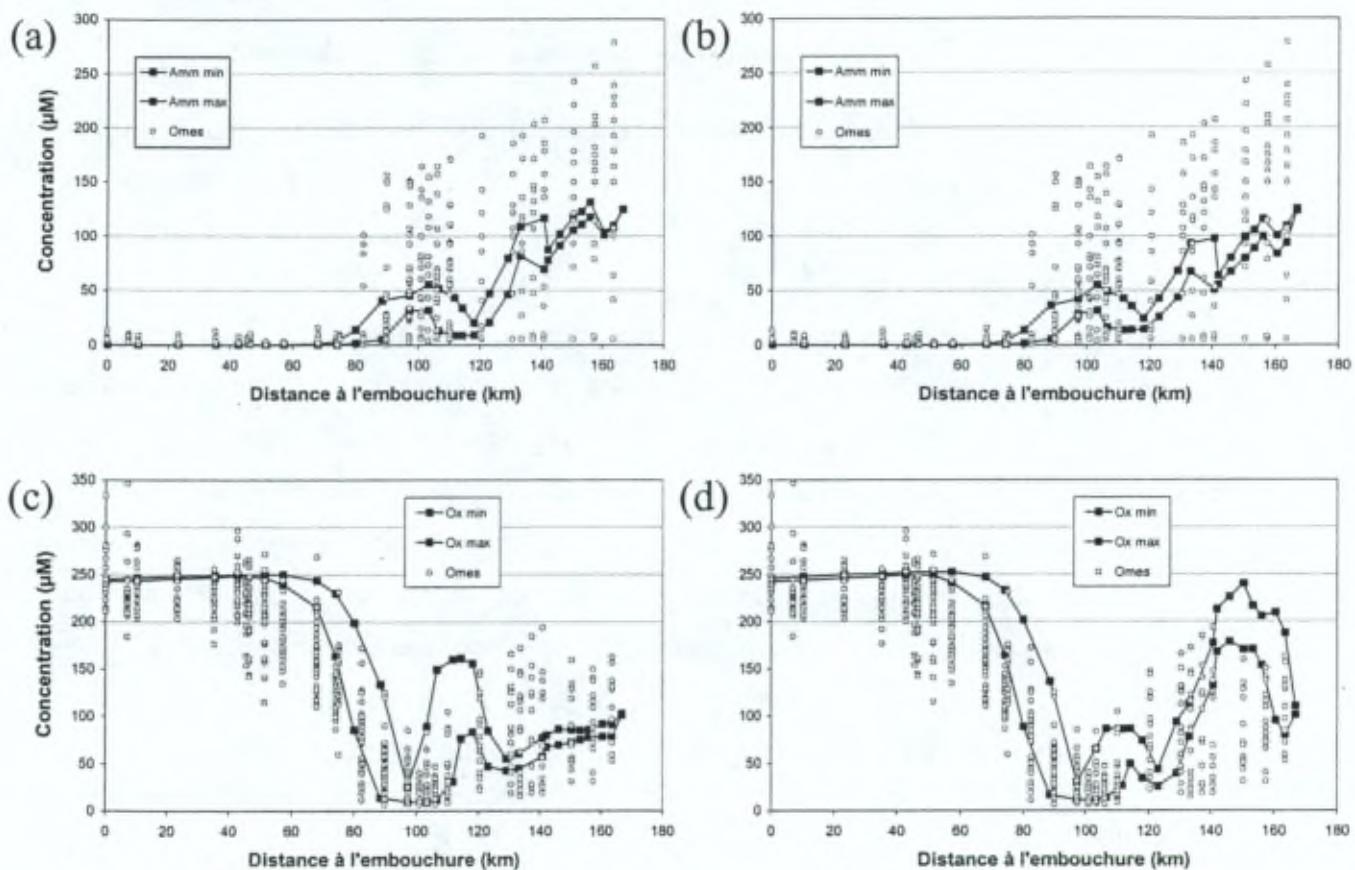


Figure 8.7 : Evolutions longitudinales des concentrations en ammonium (a et b), et en oxygène dissous (c et d) dans l'estuaire de l'Escaut, au mois de juillet pour les années 2000. Les deux graphes de gauche sont issus d'une simulation où α^B et P_{max}^B valent respectivement $0.05 \mu\text{gC} \cdot \mu\text{gChl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$ et $10 \mu\text{gC} \cdot \mu\text{gChl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (1^{er} scénario). Le volet droit représente la même simulation avec α^B et P_{max}^B valant respectivement $0.10 \mu\text{gC} \cdot \mu\text{gChl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$ et $30 \mu\text{gC} \cdot \mu\text{gChl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (2^{ème} scénario). Les deux courbes limitent l'enveloppe de la variation temporelle (min-max).

L'impact de l'augmentation des paramètres photosynthétiques sur le profil d'oxygène dissous est très marqué à l'amont (figure 8.7 c et d), puisqu'on passe d'une diminution nette (pente $\sim -0.6 \mu\text{M-O}_2 \cdot \text{km}^{-1}$) à une augmentation (pente $\sim 5 \mu\text{M-O}_2 \cdot \text{km}^{-1}$) entre les km 165 et 145. Dans le 1^{er} scénario, la production phytoplanctonique et les échanges avec l'atmosphère sont trop faibles pour compenser la respiration hétérotrophe et la nitrification, toutes deux importantes à cet endroit. On peut noter ici que la concentration en oxygène dissous est toujours suffisante pour ne pas avoir d'impact négatif sur la nitrification ($K_{\text{MO}_2} = 15 \mu\text{M-O}_2$). Dans le 2^{ème} scénario, en revanche, le bilan global des apports et consommations est inversé. La différence entre les pentes des deux scénarios ($\sim 6 \mu\text{M-O}_2 \cdot \text{km}^{-1}$) est légèrement inférieure aux $9 \mu\text{M} \cdot \text{km}^{-1}$ attendus pour un rapport $\Delta C / \Delta O_2$ égal à 1. Il faut remarquer que notre approche graphique très simplifiée néglige les

différences de réaération. Dans le 2^{ème} scénario, on s'attend en effet à une diminution de la vitesse de réaération due à l'augmentation de la concentration en oxygène dissous.

Notre interprétation du maximum d'oxygène dissous calculé entre les km 100 et 120 est la suivante : pour les petites valeurs des paramètres photosynthétiques, l'ammonium est presque totalement épuisé au km 120, et la consommation d'oxygène par la nitrification est quasiment arrêtée ($K_m \text{NH}_4 = 100 \mu\text{M}$). La réaération et la production phytoplanctonique locale entraînent alors une augmentation assez rapide de l'oxygène dissous. Suite à un accroissement important des paramètres photosynthétiques, la silice devient rapidement limitante pour la production phytoplanctonique, et par conséquent, l'incorporation d'ammonium ralentit dès le km 140. De façon un peu paradoxale, la consommation d'ammonium qui était plus rapide à l'amont ralentit entre les km 140 et 120. La nitrification au km 120 n'est donc pas totalement supprimée, et l'augmentation de la concentration en oxygène dissous est moins rapide. Nonobstant, au-delà du km 100, on observe pour les deux scénarios une chute très rapide de la concentration en oxygène dissous due aux apports de matière organique et d'ammonium en provenance du Rupel.

Un des intérêts de cette étude de sensibilité par rapport aux paramètres photosynthétiques est de montrer que, dans la zone amont (du km 160 au km 100), les résultats de simulation balaiennent toute la plage de variabilité des résultats d'oxygène dissous.

8.3.4 Perspective « passé-présent-futur »

Trois simulations ont été effectuées pour tenter de reproduire la situation des années 1990, celle de l'année 2002, et de prévoir celle de 2010¹. Les conditions aux limites ont donc été adaptées pour simuler l'historique et le pronostic de l'amélioration des systèmes d'épuration dans le réseau hydrographique en amont de l'estuaire. La situation en 2002 tient compte d'une épuration partielle des eaux des Régions Bruxelloise et Flamande. La situation à l'horizon 2010 prévoit l'existence d'un traitement complet des matières organiques et de l'azote dans les eaux usées de Bruxelles, avec pour conséquence une forte diminution de la charge polluante apportée par le Rupel.

La figure 8.8 présente les résultats des trois simulations pour la matière organique (a), l'ammonium (b), les nitrates (c), et l'oxygène dissous (d). Pour ces simulations, toutes les conditions de forçage (température, ensoleillement, débits d'amont) sont identiques; seules les charges en provenance du réseau hydrographique ont été adaptées. La figure 8.8 (a) montre l'effet de la diminution de la charge sur le profil de concentration en matières

¹ Réalisé dans le cadre du contrat européen EUROTROPH, 2001-2004.

organiques, principalement en amont de l'estuaire (km 160), à la confluence avec la Dendre (km 130), et avec le Rupel (km 100). La situation de 2010 est caractérisée par la diminution spectaculaire de la charge organique en provenance de Bruxelles. Mais, les simulations présentées à la figure 8.8 (a) mettent aussi bien en évidence le rôle d'épurateur naturel joué par l'estuaire de l'Escaut : quelle que soit l'intensité de l'épuration des eaux à l'amont, la charge organique rejetée vers la mer est toujours proche de zéro. A ce titre, le bénéfice de l'épuration ne concerne que l'amont du km 80 (c'est-à-dire la partie de l'estuaire située en territoire belge).

Lors du traitement des eaux usées, la respiration de la matière organique produit de l'azote inorganique sous forme d'ammonium, lequel est transformé à plus de 90 % en nitrate par les bactéries nitrifiantes au cours du processus artificiel (hypothèse de calcul basée sur des estimations provenant du réseau de mesures de la région flamande, VMM 2003). Le reste de l'ammonium est rejeté dans le système fluvial où cette transformation naturelle se poursuit. En conséquence, lorsque les masses d'eau atteignent l'estuaire de l'Escaut, la charge en ammonium est fortement réduite par rapport à une situation où la matière organique est respirée à proximité ou au sein même de l'estuaire (figure 8.8 b).

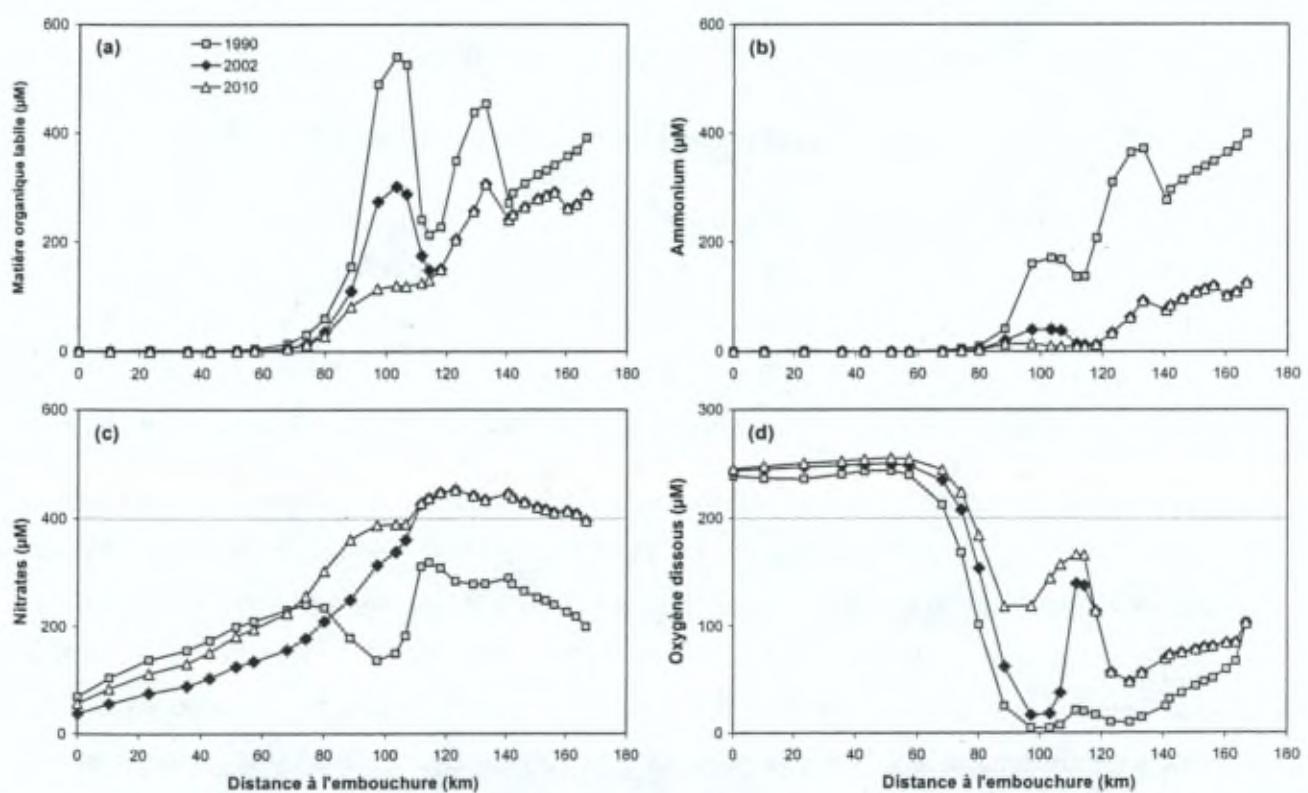


Figure 8.8 : Evolutions longitudinales des concentrations moyennes en matière organique (a), en ammonium (b), en nitrates (c), et en oxygène dissous (d) dans l'estuaire de l'Escaut, au mois de juillet et pour des conditions aux limites différentes (associées ici à des années différentes).

L'azote n'en est pas moins présent dans l'estuaire sous la forme de nitrate, à savoir le produit final de la nitrification. On voit en effet, en comparant les figures 8.8 (b) et (c), qu'au km 160, l'ammonium éliminé par le traitement des eaux se retrouve en grande partie sous forme de nitrates. Par ailleurs, un autre effet tend à augmenter les concentrations en nitrates dans l'estuaire, à savoir la disparition des zones fortement anoxiques, et par conséquent la disparition presque totale de la dénitrification dans la région située de part et d'autre d'Anvers. Le minimum de concentration en nitrates observé au voisinage du km 100 disparaît totalement des profils longitudinaux. Le résultat global est un quasi doublement de la concentration en nitrates dans la partie estuarienne entre l'embouchure et le km 70.

Une des conclusions importantes de ces simulations est donc de confirmer que l'installation des systèmes d'épuration ne permet plus de profiter de l'élimination naturelle de l'azote, et accroît en conséquence le flux d'azote vers la zone côtière. Ce paradoxe avait déjà été anticipé par Billen (1990). Comme le montre la figure 8.8 (d), un autre changement majeur s'opère au niveau de la concentration en oxygène dissous. L'augmentation de celle-ci dans l'estuaire entre les km 120 et 80 découle directement de la diminution des apports en matière organique et en ammonium en provenance du Rupel. Si le bilan global est défavorable en ce qui concerne l'export d'azote en mer, il est en revanche très favorable quant à l'amélioration des conditions redox au voisinage d'Anvers.

8.3.5 Bilans et apports vers la zone côtière, rôle de la production phytoplanctonique

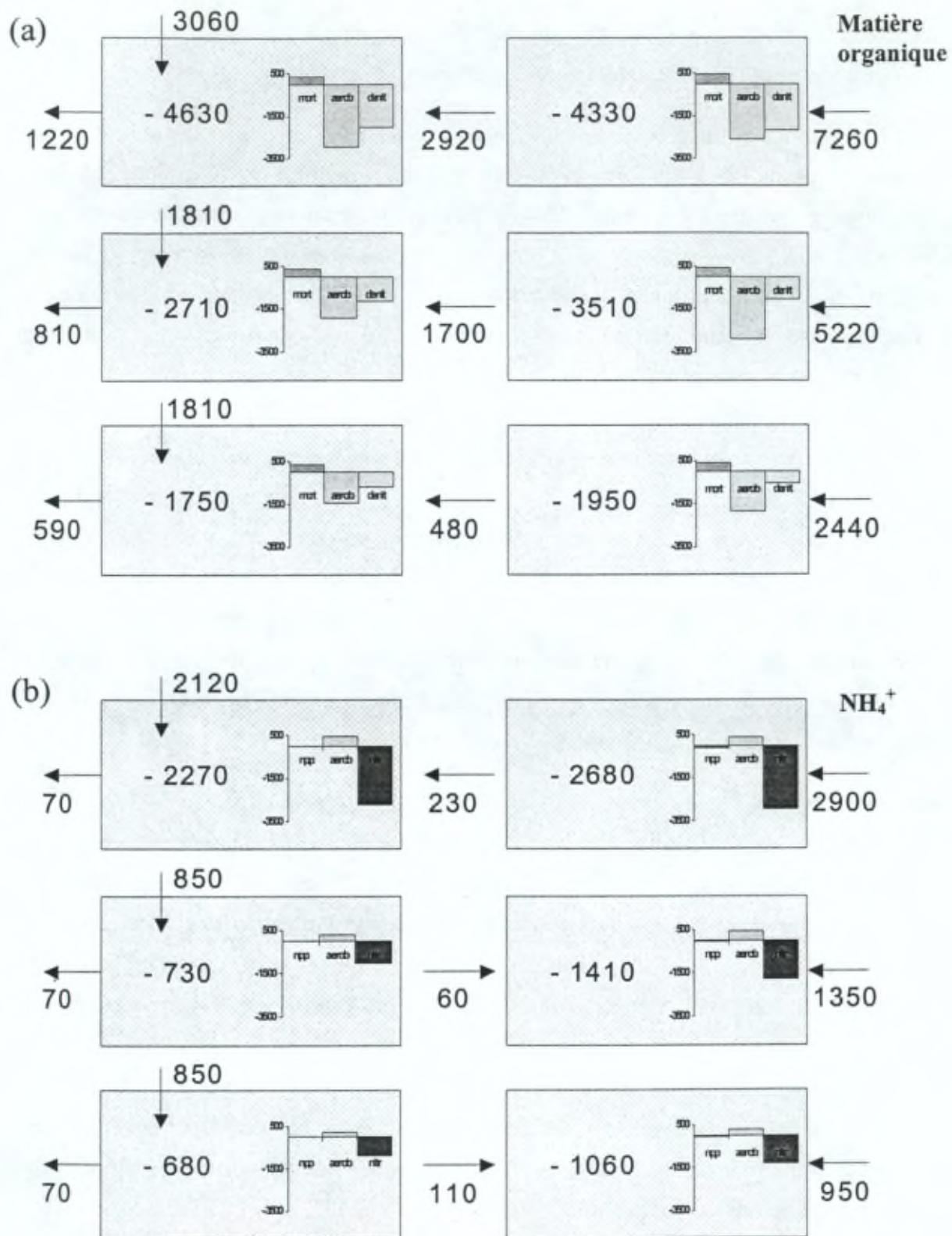
Des bilans tenant compte des apports dans l'estuaire, des exportations vers la mer et des processus internes ont été dressés pour différentes variables (O_2 dissous, matière organique, ammonium, nitrate). Pour une meilleure visualisation des transferts, l'estuaire a été divisé en deux parties, la frontière entre les deux zones étant située à la limite de l'intrusion saline dans l'estuaire (~ km 90, à l'aval immédiat de la confluence du Rupel).

La figure 8.9 expose les bilans résultant des trois simulations discutées précédemment (1990, 2000, et 2010). Pour chaque variable, le tableau se divise en trois lignes de deux boîtes reliées par des flèches. Chaque ligne correspond à une simulation où les conditions aux limites sont respectivement celles de 1990, 2000, et 2010. Les boîtes de droite représentent la partie amont de l'estuaire, et les boîtes de gauche la partie aval. Les flèches représentent les flux entrant et les flux sortant. Les flèches horizontales sont les flux accompagnant les masses d'eau, et les flèches verticales indiquent les apports latéraux. Au sein de chaque boîte, un chiffre représente le bilan net (production ou

consommation) de la variable. Ce bilan net est accompagné d'un graphe qui montre la contribution respective de chaque processus affectant la variable.

Les flux de matière organique sont fortement affectés par l'épuration des eaux d'amont (figure 8.9 a). Le flux entre l'estuaire amont et la partie aval est divisé par six, et le flux vers la zone côtière par deux entre 1990 et 2010. Sur les graphes affichant la contribution des processus, on remarque les diminutions de la respiration aérobie et de la dénitrification qui consomment la matière organique. La respiration hétérotrophe répond à la baisse de la concentration du substrat organique. Pour la dénitrification, il faut aussi compter avec la hausse de la concentration en oxygène dissous qui inhibe l'activité dénitritifiante. Comme montré plus haut à la figure 8.8 (b), les concentrations en ammonium dans l'estuaire sont considérablement appauvries par l'intervention de systèmes d'épuration situés loin en amont. La figure 8.9 (b) montre bien à quel point cet appauvrissement influence le processus de nitrification au sein de l'estuaire. Remarquons que les apports latéraux dans l'estuaire aval sont d'une ampleur presque identique à la charge arrivant dans l'estuaire amont. Avec l'installation des systèmes d'épuration en amont, et en raison de la persistance des apports latéraux en aval, les flux d'ammonium s'inversent entre les deux parties de l'estuaire : à partir de 2000, l'estuaire aval devient une source d'ammonium pour l'amont où il est nitrifié.

Un autre fait marquant est la modeste contribution phytoplanctonique à la consommation d'ammonium, qui devient pratiquement négligeable suite à la diminution des teneurs en ammonium due à l'épuration des eaux. La diminution de l'incorporation d'ammonium est compensée par une augmentation simultanée de la consommation des nitrates par le phytoplancton qu'on distingue à peine sur la figure 8.9 c. Comme remarqué plus haut (figure 8.8 c), l'apport en nitrates dans l'estuaire amont est rehaussé dans le cas d'une épuration des eaux. Le transfert de nitrates vers l'estuaire aval augmente également. L'apport de nitrates vers la zone côtière diminue légèrement par rapport à la situation de 1990, mais il faut remarquer que les données disponibles ne permettent pas d'estimer l'apport latéral en nitrates pour 2000 et 2010. Les valeurs données entre parenthèses sont donc des estimations minimum.



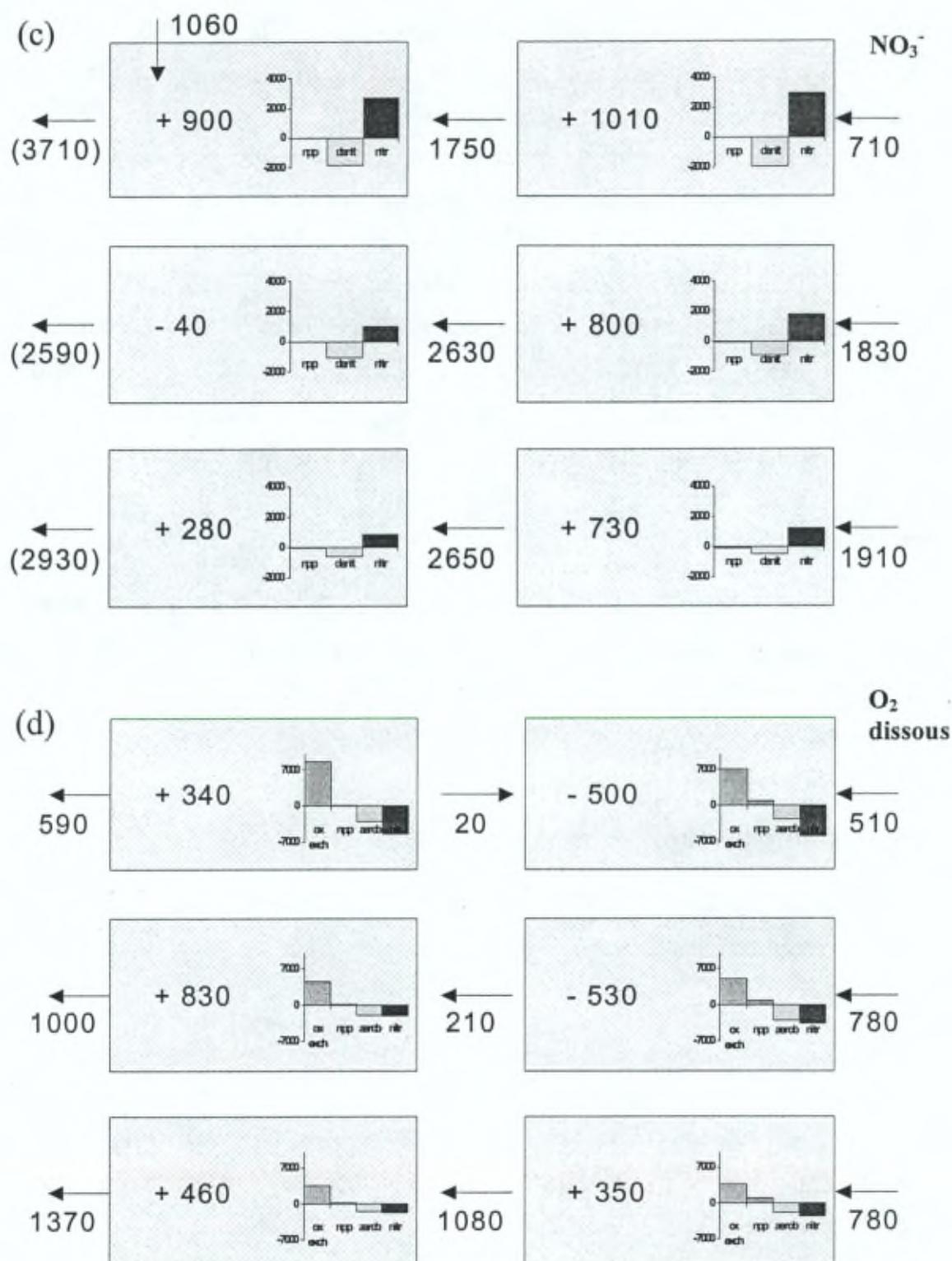


Figure 8.9 : Tableaux présentant les bilans nets de production/consommation et les flux d'entrée et de sortie pour (a) la matière organique, (b) l'ammonium, (c) les nitrates, et (d) l'oxygène dissous dans l'estuaire de l'Escaut. Tous les flux sont exprimés en kmole.jour⁻¹ (de C, N et O₂ resp.), et représentent une valeur moyenne journalière calculée sur l'ensemble d'un cycle vives eaux-mortes eaux, afin d'annuler l'effet des variations de volume d'eau dans l'estuaire. npp = production phytoplanctonique nette, mort = mortalité phytoplanctonique, aerob = respiration aérobique, nitr = nitrification, denitr = dénitrification, ox exch = échanges d'oxygène entre l'atmosphère et la colonne d'eau.

Un constat important ressort des bilans d'oxygène dissous (figure 8.9 d): la nitrification est au moins autant responsable de la consommation d'oxygène que la respiration aérobie. Les bilans d'oxygène mettent également en évidence l'importance du processus de réaération de la colonne d'eau. C'est l'échange d'oxygène à l'interface eau-atmosphère, et non la production phytoplanctonique, qui constitue l'apport essentiel en oxygène dans la colonne d'eau (figure 8.9 d). Pour ce qui concerne la production phytoplanctonique, on remarque d'ailleurs qu'elle n'est un processus crucial pour aucune des variables présentées. De plus, l'installation de systèmes d'épuration n'affecte quasiment pas la production algale au sein de l'estuaire, si ce n'est qu'elle induit une consommation de nitrates aux dépens d'ammonium. La mortalité du phytoplancton contribue à l'apport de matière organique de façon presque constante (figure 8.9 a). Son importance relative tend à croître au cours du temps, pour atteindre environ 20 % des apports détritiques d'amont dans l'estuaire en 2010.

Une dernière observation qui résulte des bilans est la similitude très prononcée de l'intensité des processus qui se déroulent au sein des deux zones considérées, et cela malgré la très grande différence des surfaces et des volumes impliqués. Ceci justifie pleinement l'intérêt qui est actuellement porté à l'étude de la zone amont de l'estuaire.

8.4 Conclusions

Malgré la difficulté de la validation, les principales variables du modèle ont pu être comparées aux résultats expérimentaux; les variations sont globalement conformes aux tendances observées.

Les résultats des simulations 2D confirment que le système estuarien peut soutenir une biomasse phytoplanctonique élevée durant la floraison algale dans la zone d'eau douce de l'amont (km 120-140). Les résultats confirment également que les conditions hydrodynamiques et bathymétriques sont peu propices au développement d'une biomasse algale importante en aval du km 100.

L'étude de la sensibilité du modèle par rapport aux paramètres photosynthétiques montre que l'augmentation de α^B et de P_{max}^B entraîne une hausse notable de la biomasse phytoplanctonique dans l'estuaire amont (km 120-160). En revanche, la biomasse reste faible en aval. La hausse de la production nette à l'amont affecte peu la concentration en ammonium. En revanche, la concentration en oxygène dissous augmente considérablement là où la biomasse algale se développe.

Une simulation portant sur des scénarios "passé-présent-futur" dans l'estuaire a pu être réalisée, mettant en rapport les conditions initiales correspondant à ces scénarios avec l'existence de systèmes d'épuration plus ou moins développés dans le réseau fluvial en amont de l'estuaire. Les conclusions principales sont les suivantes :

- la production phytoplanctonique agit peu sur les bilans d'oxygène dissous, d'azote, et de matière organique. En terme de flux, son rôle est à peu près comparable dans la zone amont et dans la zone aval.
- La réaération, la nitrification et la respiration hétérotrophe contrôlent le bilan d'oxygène dissous. Dans les simulations, l'activité conjuguée des bactéries hétérotrophes et nitrifiantes participe pour une part presque égale à la consommation d'oxygène dissous dans l'estuaire.
- La respiration aérobie et la dénitrification contrôlent à la fois le bilan d'azote et le bilan de matière organique. Les deux processus jouent un rôle presque aussi important dans le bilan de matière organique en 1990, le rôle de la dénitrification diminuant ensuite.
- Le modèle prévoit que l'installation de systèmes d'épuration à Bruxelles conduira à une légère augmentation des apports de nitrates vers la zone côtière. En revanche, la qualité de l'eau au sein de l'estuaire s'en trouvera améliorée suite à l'augmentation de la concentration en oxygène dissous dans les régions qui en sont encore actuellement appauvries.

Au vu des bilans de carbone, d'azote et d'oxygène dissous, on a tendance à penser qu'une description plus détaillée de la production phytoplanctonique n'est pas utile, car ce processus joue de manière marginale en comparaison à d'autres processus beaucoup plus intenses. Toutefois, on peut relever trois raisons justifiant une telle description :

- Il y a au moins un paramètre qui est fortement affecté par la floraison phytoplanctonique dans l'estuaire, à savoir la silice dissoute. Il est très important de décrire convenablement la production phytoplanctonique pour avoir une bonne estimation de l'export vers la zone côtière de la silice, laquelle joue un rôle central dans l'équilibre écologique des espèces phytoplanctoniques en mer. Pour les mêmes raisons, il faudrait également tenir compte de la redissolution de la silice biogénique dans l'estimation des apports en zone côtière.

- Avec l'augmentation de la qualité des eaux, le rôle relatif de la production phytoplanctonique dans les bilans a tendance à augmenter.
- Bien que le modèle ne soit pas un modèle écologique, il demeure néanmoins intéressant de tester les conditions d'apparition et de disparition des espèces de phytoplancton, notamment en fonction de la disponibilité en silice ou de leur résistance au stress salin, par exemple.

Donc, le modèle peut encore être notablement amélioré, tant au niveau hydrodynamique que biogéochimique. Il a été mentionné qu'un module de transport solide est actuellement développé dans le Service de Traitement des Eaux et Pollution pour décrire, entre autres, les fluctuations rapides de concentration des matières en suspension dans la colonne d'eau. Cela permettra de mettre en jeu un coefficient d'atténuation vertical de la lumière qui varie au cours des marées.

On peut également suggérer que le modèle prenne à terme en compte trois types de phytoplancton, apparentés à des espèces existantes: d'une part, les consommateurs de silice; d'autre part, les non-consommateurs de silice, eux-mêmes divisés en deux types: un type de phytoplancton marin (Haptophyte *Phaeocystis* sp.; Lancelot et al. 1997) et un type d'eaux douces (e.g. Coccoal green algae *Scenedesmus* spp.; Muylaert et Sabbe 1999).

Dans le modèle, le grazing du phytoplancton par le zooplancton est traité comme un compartiment non-dissocié de la mortalité du phytoplancton. On peut également envisager de développer cet aspect, a fortiori si l'amélioration de la qualité de l'eau se poursuit, entraînant une nouvelle distribution du zooplancton dans l'estuaire.

Chapitre 9

Conclusions générales

An English version is available after this text.

L'estuaire de l'Escaut est soumis à d'importants rejets de matière organique et de nutriments (NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-}) qui sont déversés dans le système via les eaux usées et le lessivage des engrains. Généralement, cela conduit à l'eutrophisation du système, caractérisée par un développement excessif de phytoplancton depuis le début du printemps jusqu'à septembre. La respiration de la matière organique d'origine phytoplanctonique par les bactéries hétérotrophes provoque un déficit en oxygène dissous dans la colonne d'eau, entraînant la mort des organismes supérieurs et la détérioration de la qualité de l'eau. Une compréhension plus fine des mécanismes contrôlant la croissance et la mort du phytoplancton est donc nécessaire pour une meilleure gestion des eaux de l'estuaire de l'Escaut et de la zone côtière adjacente. Dans un système bien mélangé et riche en nutriments, la croissance du phytoplancton n'est généralement pas limitée par la disponibilité de ceux-ci, et la lumière est le facteur limitant. Toutefois, des concentrations élevées en chlorophylle *a* sont souvent observées en parallèle avec de hautes turbidités, et réciproquement, une diminution importante de la chlorophylle *a* se produit aux faibles salinités alors que la turbidité diminue également. Cela suggère que, malgré l'évidence d'une limitation par la lumière, le contrôle de la production phytoplanctonique repose sur des mécanismes plus complexes. L'objectif central de ce travail est d'identifier quels sont les facteurs environnementaux qui contrôlent la production phytoplanctonique dans l'estuaire de l'Escaut, et d'atteindre une meilleure compréhension des mécanismes qui dirigent la distribution complexe de la biomasse phytoplanctonique dans ce système.

Afin d'identifier ces facteurs et mécanismes, nous adoptons une stratégie reposant à la fois sur l'outil expérimental et sur la modélisation. Dans une première phase, l'objectif du travail est de reconnaître, au moyen de mesures en laboratoire et sur le terrain, les principaux paramètres affectant la production du phytoplancton dans l'estuaire de l'Escaut (disponibilité lumineuse, nutriments, salinité, température, pH, alcalinité, O_2 dissous...). Concernant le phytoplancton, une attention spéciale est apportée à la courbe photosynthèse-irradiance, telle que déterminée par la méthode de l'incorporation du ^{14}C . L'évolution de tous les paramètres biogéochimiques est étudiée dans l'espace (le long de

l'axe longitudinal de l'estuaire) et dans le temps (en un point fixe avec une période de l'ordre de la semaine).

Les observations à l'échelle saisonnière confirment que la disponibilité lumineuse est le principal facteur limitant la production du phytoplancton. Les nutriments ne sont pas limitants dans l'estuaire, à l'exception de la silice qui peut limiter de façon non-systématique mais récurrente la croissance des diatomées en été. D'autres facteurs environnementaux sont classés selon leur influence sur la disponibilité lumineuse (irradiance solaire, matières en suspension, et donc vitesses de courant, entre autres), sur la performance photosynthétique (température), sur la biomasse (mécanismes de transport, temps de résidence). Les observations ont permis de scinder la problématique générale en questions plus concrètes et plus spécifiques: 1) comment expliquer que la floraison du phytoplancton se produit dans des régions de turbidité élevée ? 2) comment expliquer la décroissance de chlorophylle *a* observée dans la région oligohaline ? La question du stress salin et celle du grazing par le zooplancton ont été abordées au moyen d'expériences spécifiques. Ces processus peuvent en effet respectivement influencer la productivité phytoplanctonique, ou constituer un terme de perte pour la biomasse des algues dans les régions oligohalines et saumâtres de l'estuaire. On montre néanmoins que, malgré un effet mesurable sur la dynamique du phytoplancton, ni le stress salin ni le grazing ne peuvent expliquer de manière convaincante la décroissance de chlorophylle *a* dans la région oligohaline. A ce stade, il devient nécessaire de s'intéresser plus finement à la dynamique phytoplanctonique, entre autres aux plus petites échelles de temps et d'espace.

La seconde partie du travail vise à établir un modèle de production primaire et de croissance du phytoplancton, sur la base des observations expérimentales. Premièrement, la méthode du ^{14}C est utilisée pour analyser la dépendance par rapport au temps de la courbe photosynthèse-irradiance. Des équations cinétiques sont écrites pour retracer l'incorporation de carbone par le phytoplancton sous différentes irradiances, dans un système fermé et mélangé. Le modèle est comparé aux résultats expérimentaux d'incorporation de ^{14}C pour différentes durées d'incubation et pour différentes irradiances. Une attention particulière est accordée aux mécanismes de photoacclimation et de photoinhibition puisqu'ils deviennent importants au-delà de quelques heures d'incubation ($> 4\text{-}5 \text{ h}$). Les conditions dans lesquelles les productions phytoplanctoniques brute et nette peuvent être évaluées à l'aide de la technique du ^{14}C sont discutées sur la base de l'irradiance et du rapport isotopique du carbone cellulaire. De plus, une solution

analytique dérivée des équations cinétiques est proposée pour l'estimation de l'incorporation nette de carbone – et donc de la production nette – dans l'optique de la méthodologie utilisée.

Deuxièmement, un modèle de production phytoplanctonique est proposé pour un estuaire turbide et soumis à de fortes marées, tel que l'estuaire de l'Escaut. Il est basé sur la description de la croissance phytoplanctonique en fonction de la lumière, de la respiration algale et de la mortalité. Les forçages du modèle sont l'irradiance solaire incidente, la profondeur de mélange et la pénétration lumineuse dans l'eau. Le coefficient d'atténuation de la lumière dans l'eau est directement relié à la dynamique des matières particulières en suspension. Les résultats du modèle montrent que l'estimation de la croissance phytoplanctonique doit être effectuée avec une résolution suffisamment fine dans le temps pour tenir compte des interférences entre les forçages physiques d'origine solaire et tidale. Le rapport entre la profondeur euphotique et la profondeur de mélange ($z_{eu}:z_{mix}$) est très dynamique à l'échelle de la marée. Certaines zones turbides, a priori défavorables à la production phytoplanctonique, peuvent néanmoins soutenir une production nette positive en raison de la variation rapide du rapport $z_{eu}:z_{mix}$. Inversement, des zones plus profondes, affichant pourtant de plus faibles turbidités, ne sont pas capables de supporter une production nette de biomasse, indépendamment de tout autre influence biogéochimique. La compréhension de ces mécanismes nécessite une analyse fine du numérateur (z_{eu}) et du dénominateur (z_{mix}) de ce rapport, à l'échelle sub-tidale. Le modèle est utilisé pour expliquer tout à la fois la croissance du phytoplancton et la diminution de la chlorophylle *a*, observées respectivement dans la partie des eaux douces et dans la région oligohaline de l'estuaire de l'Escaut.

Troisièmement, un module "production phytoplanctonique" est implanté dans un modèle biogéochimique-hydrodynamique de l'estuaire de l'Escaut. Ce modèle bidimensionnel (2D-intégré verticalement) s'étend depuis les affluents du système estuarien jusqu'à la Mer du Nord. Les simulations confirment nos précédentes interprétations et prédisent que le système d'eau douce de l'amont (km 120-140) peut soutenir une biomasse phytoplanctonique élevée ($60 \mu\text{g-chla l}^{-1}$) durant la floraison estivale. Les résultats de modélisation reproduisent également le profil de décroissance longitudinale de la chlorophylle *a* autour du km 100 dans la zone oligohaline. Une étude de sensibilité par rapport aux paramètres photosynthétiques montre que l'augmentation de α^B et de P_{max}^B

entraîne une hausse notable de la biomasse phytoplanctonique dans l'estuaire amont (km 120-160), mais que la biomasse reste faible à l'aval dans les régions oligohalines et saumâtres. La hausse de production nette à l'amont entraîne une augmentation considérable de l'oxygène dissous, mais n'affecte presque pas la concentration en ammonium. Des simulations permettent, par ailleurs, de tester différents scénarios dans le but de prévoir les implications des politiques d'épuration des eaux sur la biogéochimie de ce système aquatique. Les résultats montrent que le traitement des eaux usées de Bruxelles, attendu à l'horizon 2010, améliorera de manière appréciable la qualité des eaux estuariennes (en particulier au voisinage d'Anvers). En revanche, les flux d'azote inorganique dissous vers la zone côtière ne devraient pas changer beaucoup dans le futur en comparaison de la situation présente. Dans tous les cas, les eaux douces de la partie amont de l'estuaire apparaissent comme un site important de réactions biogéochimiques et de production phytoplanctonique, au moins autant que les parties saumâtres et marines de l'estuaire, malgré de larges différences dans les surfaces et les volumes impliqués. Cependant, le phytoplancton contribue peu aux transformations biogéochimiques en comparaison des bactéries hétérotrophes et nitrifiantes, sauf pour ce qui concerne la silice dissoute dont la distribution est étroitement liée à l'activité des diatomées.

Conclusions principales

- Les nutriments ne limitent pas la production du phytoplancton; toutefois, la silice peut occasionnellement limiter la croissance des diatomées en été.
- Le stress salin et le grazing par le zooplancton ne peuvent ni l'un ni l'autre expliquer la diminution de la biomasse phytoplanctonique observée dans la région oligohaline.
- La disponibilité lumineuse est le principal facteur limitant. Dans l'estuaire, elle est une fonction de l'irradiance solaire (cycle jour-nuit) et de la dynamique des matières en suspension (cycle tidal, y compris le cycle vives eaux-mortes eaux).
- Bien qu'il varie fort dans le temps, le coefficient d'atténuation de la lumière présente toujours une valeur homogène dans la colonne d'eau, à tout le moins au sein de la couche photique où la production phytoplanctonique prend place.

- Les interactions entre l'irradiance solaire, la pénétration lumineuse et la profondeur de mélange, toutes trois variables dans le temps, doivent être prises en compte au moins à l'échelle horaire pour estimer la production du phytoplancton dans un système aussi dynamique que l'estuaire de l'Escaut.
- Le rapport $z_{eu}:z_{mix}$ qui constitue le principal facteur contrôlant la production nette du phytoplancton, dépend de façon complexe du temps. Une production phytoplanctonique nette positive peut prendre place dans des zones de haute turbidité, pour autant que la dynamique du rapport $z_{eu}:z_{mix}$ soit favorable.
- Les deux paramètres photosynthétiques (α^B et P_{max}^B) jouent un rôle central dans l'estimation de la production phytoplanctonique. A l'échelle des saisons, α^B n'a pas encore été corrélé à un autre paramètre environnemental. En revanche, P_{max}^B est assurément une fonction de la température des eaux. Le long de l'axe longitudinal, les deux paramètres suivent probablement la succession des espèces.
- La photoacclimatation et la photoinhibition prennent manifestement place durant les incubations. Aucune méthode fiable n'a encore été mise sur pied pour quantifier ces processus au sein de la colonne d'eau turbide et naturellement bien mélangée de l'Escaut.
- En admettant une variation de α^B et de P_{max}^B à une fréquence semi-diurne, celle-ci affecterait significativement l'estimation de la production intégrée. Toutefois, cette variation ne modifierait pas nos conclusions précédentes concernant le contrôle de la production du phytoplancton.
- Il n'y a pas de preuve manifeste d'une sédimentation ou d'une resuspension synchrones de la chlorophylle *a* et des sédiments au cours du cycle tidal dans l'estuaire de l'Escaut.
- Les transformations biogéochimiques sont nombreuses et intenses dans l'estuaire. Leur importance est identique dans la partie des eaux douces et dans la partie marine, malgré la différence des surfaces et des volumes impliqués.
- Le phytoplancton joue un rôle marginal dans ces transformations en comparaison des bactéries hétérotrophes et nitrifiantes; sauf pour la dynamique de la silice dissoute qui dépend essentiellement de l'activité des diatomées.

- Une amélioration notable de la qualité des eaux estuariennes est attendue dans un futur proche avec l'installation de nouvelles stations d'épuration des eaux. La contribution relative du phytoplancton dans les transformations biogéochimiques devrait augmenter en comparaison de la situation présente.

Travaux futurs

Les travaux futurs pourraient s'attacher à mieux comprendre les processus de photoacclimatation et de photoinhibition, tels qu'ils prennent place aux échelles journalière et horaire dans l'estuaire. En particulier, quantifier l'importance de ces processus dans une colonne d'eau turbide et bien mélangée peut constituer une réelle avancée dans l'estimation de la production phytoplanctonique.

L'estimation des flux de silice entre les eaux continentales et la mer constitue toujours une question importante pour ce qui concerne l'écologie et la succession des espèces dans la zone côtière. L'influence des diatomées sur le cycle de la silice est prédominante dans l'estuaire de l'Escaut. Pourtant, le comportement de la silice biogénique le long de l'axe longitudinal de l'estuaire reste matière à recherche.

L'implantation dans le modèle 2D d'une autre espèce phytoplanctonique (non-diatomée) sera tôt ou tard nécessaire pour l'estimation de la production dans le panache de l'estuaire et dans la zone côtière adjacente.

Dans un futur proche, avec l'amélioration de la qualité des eaux et les concentrations plus élevées en oxygène dissous, la prise en compte du grazing deviendra probablement un thème de plus en plus important, avec des conséquences sur le sort du phytoplancton. Une redistribution du zooplancton (e.g. copépodes) pourrait altérer la distribution des biomasses phytoplanctoniques sur l'axe longitudinal, en particulier dans les régions d'eaux douces et oligohalines.

Summary and Conclusions

Summary

The Scheldt estuary is subjected to important loads of organic matter and nutrients (NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-}) which are brought into the system by wastewaters and by fertilizers leaching. This generally leads to an eutrophicated situation characterized by an excessive growth of phytoplankton from early spring until september. The respiration of the decayed algal biomass by heterotrophic bacteria leads to a depletion of dissolved oxygen in the water column. This results in the death of the higher organisms and the deterioration of the water quality. A better understanding of the mechanisms that control phytoplankton growth and decay is thus required for future management of the Scheldt estuary and the adjacent coastal zone. In such a nutrient-rich and well-mixed system, phytoplankton growth is usually not limited by the availability of nutrients, and light is the crucial limiting factor. However, high chlorophyll *a* concentrations are often observed simultaneously with high turbidities, and conversely, a decay in chlorophyll *a* occurs when turbidity decreases at low salinities. This suggests that, though light is a crucial limiting factor, the control of phytoplankton production stems from more complex mechanisms. The central issue of this work is to identify which are the environmental factors controlling the phytoplankton production in the Scheldt estuary, and to get a better understanding of the mechanisms which drive the complex distribution of phytoplankton biomass in this system.

To identify these factors and to study the mechanisms responsible for the control of phytoplankton production, both experimental and modeling tools are used. In the first part, the purpose of this work is to recognize, by means of experimental laboratory and field measurements, the main parameters affecting phytoplankton production in the Scheldt estuary (light availability, nutrients, salinity, temperature, pH, alcalinity, dissolved O_2 ...). Regarding phytoplankton, a special attention is paid to the photosynthesis-light response curve as assessed by the ^{14}C -uptake technique. The evolution of all biogeochemical parameters is studied both temporally (on a weekly basis, at a fixed place) and spatially (along the longitudinal axis of the estuary).

Observations at the seasonal scale confirm that light availability is the main limiting factor of phytoplankton production. Nutrients are not limiting in the estuary. However,

silica may exceptionally limit diatom growth in summer. Other parameters are classified as affecting the light availability (solar light, suspended solids, and hence current velocity), the photosynthetic performance (temperature), the biomass (transport mechanisms, residence time). The experimental approach allowed us to focus our attention on more concrete and specific issues resulting from seasonal and longitudinal observations: 1) how to explain that phytoplankton bloom occurs in areas of high turbidity ? 2) how to explain the chlorophyll *a* decrease in the oligohaline region ? Attention has been brought to salinity stress and grazing by zooplankton in specific experiments. Indeed, these processes may respectively affect productivity or constitute a loss term for algal biomass in the oligohaline and brackish regions of the estuary. It is shown, however, that despite a measurable effect on phytoplankton dynamics, neither salinity nor grazing may convincingly explain the chlorophyll *a* decrease in the oligohaline region. At this stage, a better appreciation of phytoplankton dynamics at smaller space- and time-scales is thus required.

The second part of the work aims at establishing a model of primary production and phytoplankton growth, on the basis of the previous experimental observations. First, the ^{14}C method is used to analyse the time-dependence of the photosynthetic response to light. Kinetic equations are written to describe carbon incorporation by phytoplankton under various irradiances in a closed, mixed system. The model is compared with experimental results of ^{14}C incorporations obtained at different incubation lengths and under various light irradiances. Attention is paid to photoinhibition and photoacclimation mechanisms, since they become critical beyond a few hours of incubation ($> 4\text{-}5$ h). The conditions under which gross and net productions may be assessed are discussed on the basis of the irradiance and the isotopic ratio of cellular carbon. In addition, an analytical solution, derived from the kinetic equations, is proposed to provide a direct estimate for net carbon incorporation in the scope of the suggested incubation methodology.

Secondly, a model for phytoplanktonic production in turbid, macro-tidal estuaries is proposed. It is based on the description of light-dependent algal growth, phytoplankton respiration and mortality. The model is forced by solar irradiance, mixing depth and light penetration. The light attenuation coefficient is directly related to the dynamics of suspended particulate matter. Model results show that the description of phytoplankton growth must operate at a time resolution sufficiently high to describe the interference between solarly and tidally driven physical forcing functions. The euphotic to mixing depth ratio ($z_{\text{eu}}:z_{\text{mix}}$) is very dynamic at the tidal scale. It is demonstrated that a net positive phytoplankton production can be sustained in areas of high turbidity, as long as

the dynamics of the euphotic to mixing depth ratio ($z_{eu}:z_{mix}$) allows it. Conversely, deeper areas exhibiting lower turbidity might not be able to support a net biomass production, independently of any other biogeochemical influence. Understanding these mechanisms requires a fine analysis of the dynamic euphotic and mixing depths at the hourly timescale. The model is used to explain both the phytoplankton growth and the chlorophyll *a* decay respectively observed in the freshwater part and in the oligohaline region of the Scheldt estuary.

Thirdly, a phytoplankton production module is implemented into a biogeochemical-hydrodynamical model of the Scheldt estuary. The bidimensional model (2D-vertically integrated) extends from the upper tributaries of the estuarine system down to the North Sea. Simulations confirm our previous interpretations and predict that a high phytoplankton biomass ($60 \mu\text{g-chla l}^{-1}$) may be sustained during the algal bloom in the freshwater reaches (km 120-140). Also, the model results reproduce the longitudinal decrease in chlorophyll *a* around km 100 in the oligohaline zone. It is shown that an increase in the values of the photosynthetic parameters (α^B and P_{max}^B) causes a significant increase in phytoplankton biomass in the freshwater reaches. However, the biomass remains low in the oligohaline and brackish regions. The enhanced net production in the upper reaches causes a significant increase in dissolved oxygen, but does not affect much ammonia concentration. Simulations allow to test different scenarios in order to forecast the implications of water treatment policies on the biogeochemistry of this aquatic system. Results show that the treatment of Brussels sewage expected in the near future will improve substantially the estuarine water quality (especially in the neighbourhood of Antwerp). In contrast, the fluxes of dissolved inorganic nitrogen to the coastal zone should not change so much in the future in comparison with the present situation. In each case, the tidal freshwater reaches of the Scheldt estuary appear as an important site of biogeochemical reactions and phytoplankton production, at least as much as the brackish and marine parts despite large differences in the surfaces and volumes involved. However, phytoplankton appears as a poor contributor to the biogeochemical transformations compared with heterotrophic and nitrifying bacteria, except for what concerns dissolved silica which distribution strongly depends on diatoms activity.

Main conclusions

- Nutrients never limit phytoplankton production; however, silica may exceptionally limit diatom growth in summer.

- Salinity stress and grazing by zooplankton cannot explain the phytoplankton decay observed in the oligohaline region.
- Light availability is the main limiting factor. In the estuary, it is related to the solar irradiance (daily cycle) and to the dynamics of suspended solids (tidal cycle including neap-spring influence).
- Though it strongly varies with time, the light attenuation coefficient always presents a constant vertical profile in the water column, at least within the photic layer where phytoplankton production takes place.
- The interactions between varying solar irradiance, light penetration and mixing depth must be taken into account at least at the hourly timescale to estimate phytoplankton production in such a dynamic system.
- The complex time-pattern of the $z_{eu}:z_{mix}$ ratio constitutes the main controlling factor for phytoplankton production. A positive net phytoplankton production may take place in areas of high turbidity, as long as the dynamics of the $z_{eu}:z_{mix}$ ratio is favourable.
- Both photosynthetic parameters (α^B and P_{max}^B) play a significant role in phytoplankton production estimates. At the seasonal time scale, α^B has not yet been correlated to any environmental parameter. However, P_{max}^B is an obvious function of water temperature. Along the longitudinal axis, both parameters probably follow the species succession.
- Photoacclimation and photoinhibition obviously take place during incubations. No reliable method has yet been found to put these processes in evidence within the natural well-mixed system of the Scheldt.
- Admitting a variation of α^B and P_{max}^B at the semi-diurnal timescale, this would significantly affect the integrated production. However, it would not change our previous conclusions regarding the control of phytoplankton production.
- There is no evidence of joint resuspension of chlorophyll *a* with sediments during the tide in this estuary.
- Biogeochemical transformations are important in the estuary. They are of equal significance in the freshwater part and in the marine part, despite large differences in the surfaces and volumes involved.

- Phytoplankton plays only a marginal role in these transformations compared with heterotrophic and nitrifying bacteria; except for silica dynamics which is essentially driven by diatoms activity.
- The estuarine water quality is expected to improve in the near future with the installation of new water treatment plants. The relative contribution of phytoplankton in biogeochemical transformations should increase compared with the present situation.

Future research

Future works may include a better understanding of photoacclimation and photoinhibition processes at the hourly and daily timescales in the estuary. Especially, assessing without doubt whether and how these processes occur in a well-mixed and turbid water column would constitute an achievement.

The fate of silica fluxes from the land to the sea still remains an issue, especially regarding the ecological aspect of phytoplankton succession in the coastal zone. Diatoms influence on silica cycle is crucial in the Scheldt estuary. Yet few is known about biogenic silica behaviour along the longitudinal axis of this system.

The implementation of another phytoplankton species (non-diatom) will eventually be necessary to assess the production in the estuarine plume and in the coastal zone.

In a close future, with the expected improvement of water quality and higher concentrations of dissolved oxygen, the evaluation of grazing will probably become an important issue in assessing phytoplankton fate. The new distribution of zooplankton (e.g. copepods) could change the distribution of phytoplankton biomass along the longitudinal axis, especially in the freshwater and oligohaline regions.

Bibliographie

- Abramowitz M, Stegun IA (1965) Handbook of mathematical functions (with formulas, graphs, and mathematical tables). Dover Publications, Inc., New York
- Abril G, Frankignoulle M (2001) Nitrogen-alkalinity interactions in the highly polluted Scheldt basin (Belgium). *Wat.Res.* 35:844-850
- Banse K (1993) On the dark bottle in the ^{14}C method for measuring marine phytoplankton production. *ICES mar.Sci.Symp.* 197:132-140
- Banse K (2002) Should we continue to measure ^{14}C -uptake by phytoplankton for another 50 years. *Limnol.Oceanogr.* 11:45-46
- Barber RT, Hiltner AK (2002) History of the study of plankton productivity. In: Williams PJl, Thomas DN, Reynolds CS (eds) Phytoplankton productivity:carbon assimilation in marine and freshwater ecosystems. Blackwell Science, p 16-43
- Baroli I, Melis A (1998) Photoinhibitory damage is modulated by the rate of photosynthesis and by the photosystem II light-harvesting chlorophyll antenna size. *Planta* 205:288-296
- Behrenfeld MJ, Prasil O, Babin M, Bruylants F (2004) In search of a physiological basis for covariations in light-limited and light-saturated photosynthesis. *Journal of Phycology* 40:4-25
- Bender ML, Grande KD, Johnson K, Marra J, Williams PJl, Sieburth J, Pilson M, Langdon C, Hitchcock G, Orchardo J, Hunt C, Donaghay P, Heinemann K (1987) A comparison of four methods for determining planktonic community production. *Limnol.Oceanogr.* 32:1085-1098
- Bidle KD, Azam F (1999) Accelerated dissolution of diatom silica by marine bacterial assemblages . *Nature* 397:508-512
- Bidle KD, Azam F (2001) Bacterial control of silicon regeneration from diatom detritus: significance of bacterial ectohydrolases and species identity. *Limnol.Oceanogr.* 46:1606-1623
- Billen G (1976) Evaluation of nitrifying activity in sediments by dark ^{14}C -bicarbonate incorporation. *Wat.Res.* 10:51-57
- Billen G (1990) N-budget of the major rivers discharging into the continental coastal zone of the North Sea: the Nitrogen Paradox. In: Eutrophication and algal blooms in North Sea coastal zones, the Baltic and adjacent areas: predictions and assessment of prevention actions (eds. C. Lancelot, G. Billen and H. Barth). *Wat.Poll.Res.Repts* 12:172
- Borges, A. Distribution of the partial pressure of carbon dioxide and air-sea exchanges over the European continental shelf. 2001. Thesis ULg (prof. Frankignoulle).
- Bowie GL, Mills WB, Porcella DB, Campbell CL, et al. (1985) Rates, constants, and kinetics formulations in surface water quality modeling. Environmental research laboratory, Office of research and development, U.S. Environmental protection agency.

- Boyer JN, Christian RR, Stanley DW (1993) Patterns of phytoplankton primary productivity in the Neuse River estuary, North Carolina , USA. *Mar Ecol Prog Ser* 97:287-297
- Brawley JW, Brush MJ, Kremer JN, Nixon SW (2003) Potential applications of an empirical phytoplankton production model to shallow water ecosystems. *Ecological Modelling* 160:55-61
- Brion, N. Etude des processus de nitrification à l'échelle des grands réseaux hydrographiques antropisés. 1998. Thèse à l'ULB.
- Brion N, Billen G, Guézennec L, Ficht A (2000) Distribution of nitrifying activity in the Seine River (France) from Paris to the estuary. *Estuaries* 23(5):669-682
- Brock TD, Clyne J (1984) Significance of algal excretory products for growth of epilimnetic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 47:731-734
- Claquin P, Martin-Jézéquel V, Kromkamp J, Veldhuis MJW, Kraay GW (2002) Uncoupling of Silicon compared with Carbon and Nitrogen metabolisms and the role of the cell cycle in continuous cultures of *Thalassiosira Pseudonana* (Bacillariophyceae) under light, Nitrogen, and Phosphorus control. *Journal of Phycology* 38:922-930
- Clementson LA, Wayte SE (1992) The effect of frozen storage of open-ocean seawater samples on the concentration of dissolved phosphate and nitrate. *Water Research* 26:1171-1176
- Cloern JE (1987) Turbidity as a control on phytoplankton biomass and productivity in estuaries. *Continental Shelf Research* 7:1367-1381
- Cloern JE, Powell TM, Huzzey LM (1989) Spatial and temporal variability in South San Francisco Bay (USA). II. Temporal changes in salinity, suspended sediments, and phytoplankton biomass and productivity over tidal time scales. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 28:599-613
- Cole BE (1989) Temporal and spatial patterns of phytoplankton production in Tomales Bay, California, U.S.A. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 28:103-115
- Cole BE, Cloern JE (1984) Significance of biomass and light availability to phytoplankton productivity in San Francisco Bay. *Mar Ecol Prog Ser* 17:15-24
- Cole BE, Cloern JE (1987) An empirical model for estimating phytoplankton productivity in estuaries. *Mar Ecol Prog Ser* 36:299-305
- Cole JJ, Caraco NF, Peierls BL (1992) Can phytoplankton maintain a positive carbon balance in a turbid, freshwater, tidal estuary? *Limnol.Oceanogr.* 37:1608-1617
- Cole JJ, Likens GE, Strayer DL (1982) Photosynthetically produced dissolved organic carbon: an important carbon source for planktonic bacteria. *Limnol.Oceanogr.* 27:1080-1090
- Cullen JJ, Lewis MR (1988) The kinetics of algal photoadaptation in the context of vertical mixing. *Journal of Plankton Research* 10:1039-1063
- de Jonge VN, van den Bergs J (1987) Experiments on the resuspension of estuarine sediments containing benthic diatoms. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 24:725-740

- Demers S, Legendre L, Therriault J-C (1986) Phytoplankton responses to vertical tidal mixing. In: Bowman J, Yentsch M, Peterson WT (eds) Tidal mixing and plankton dynamics. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,
- Demers S, Therriault J-C, Bourget E, Abdourrahmane B (1987) Resuspension in the shallow sublittoral zone of a macrotidal estuarine environment: wind influence. Limnol.Oceanogr. 32:327-339
- Di Toro DM (1978) Optics of turbid estuarine waters: approximation and application. Wat.Res. 12:1059-1068
- Dolan JR, Gallegos CL, Moigis A (2000) Dilution effects on microzooplankton in dilution grazing experiments. Mar Ecol Prog Ser 200:127-139
- Dring MJ, Jewson DH (1982) What does ^{14}C uptake by phytoplankton really measure ? A theoretical modelling approach. Proceedings of the Royal Society B 214:351-368
- Effler SW (1988) Secchi disc transparency and turbidity. Journal of Environmental Engineering 114:1436-1447
- Eilers PHC, Peeters JCH (1988) A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. Ecological Modelling 42:199-215
- Engel A, Goldthwait S, Passow U, Alldredge A (2002) Temporal decoupling of carbon and nitrogen dynamics in a mesocosm diatom bloom. Limnol.Oceanogr. 47:753-761
- Falkowski PG, Raven JA (1997) Aquatic Photosynthesis. Blackwell Science, Ltd,
- Feliatra F, Bianchi M (1993) Rates of nitrification and carbon uptake in the Rhône river plume (Northwestern Mediterranean Sea). Microbial Ecology 26:21-28
- Fettweis M, Sas M, Monbaliu J (1998) Seasonal, neap-spring and tidal variation of cohesive sediment concentration in the Scheldt estuary, Belgium. Estuarine, Coastal and Shelf Science 47:21-36
- Ficchez R, Jickells TD, Edmunds HM (1992) Algal blooms in high turbidity, a result of the conflicting consequences of turbulence on nutrient cycling in a shallow water estuary. Estuarine, Coastal and Shelf Science 35:577-592
- Flöder S, Burns CW (2004) Phytoplankton diversity of shallow tidal lakes: influence of periodic salinity changes on diversity and species number of a natural assemblage. Journal of Phycology 40:54
- Fofonoff NP, Millard JrRC (1983) Algorithms for computation of fundamental properties of seawater. UNESCO technical papers in marine science 44
- Folmer IM 2003 A nested grid reactive-transport model for land ocean interaction studies: biogeochemical modelling of the Scheldt river, estuary and coastal zone of the North Sea. Mémoire à l'Université d'Utrecht (prof. P. Regnier).
- Folmer, I. M., Aguilera, D., Desmit, X., Dorge, J., Petersen, O. S., Vanderborgh, J. P., Wollast, R., and Regnier, P. A dynamically nested grid reactive-transport model for land-ocean interaction studies. Geophysical Research Abstracts 5. 2003.

- Folmer I, Vanderborght JP, Regnier P, Desmit X, Aguilera D, Uhrenholdt T (in prep) Prediction of carbon and nitrogen fluxes along the river-estuarine continuum using a 2D biogeochemical model.
- Frankignoulle M, Bourge I, Wollast R (1996) Atmospheric CO₂ fluxes in a highly polluted estuary (the Scheldt). Limnol.Oceanogr. 41:365-369
- Froelich PN (1988) Kinetic control of dissolved phosphate in natural rivers and estuaries: a primer on the phosphate buffer mechanism. Limnol.Oceanogr. 33 :649-668
- Geider RJ (1993) Quantitative phytoplankton physiology: implications for primary production and phytoplankton growth. ICES mar.Sci.Symp. 197:52-62
- Geider RJ, MacIntyre HL (2002) Physiology and biochemistry of photosynthesis and algal carbon acquisition. In: Williams PJL, Thomas DN, Reynolds CS (eds) Phytoplankton Productivity: Carbon assimilation in marine and freshwater ecosystems. Blackwell Science Ltd, p 44-77
- Geider RJ, MacIntyre HL, Kana TM (1996) A dynamic model of photoadaptation in phytoplankton. Limnol.Oceanogr. 41:1-15
- Geider RJ, MacIntyre HL, Kana TM (1997) Dynamic model of phytoplankton growth and acclimation: responses of the balanced growth rate and the chlorophyll *a*:carbon ratio to light, nutrient-limitation and temperature. Mar.Ecol.Prog.Ser. 148:187-200
- Geider RJ, MacIntyre HL, Kana TM (1998) A dynamic regulatory model of phytoplanktonic acclimation to light, nutrients, and temperature. Limnol.Oceanogr. 43:679-694
- Grande KD, Marra J, Langdon C, Heinemann K, Bender ML (1989) Rates of respiration in light measured in marine phytoplankton using an ¹⁸O isotope-labelling technique. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 129:95-120
- Grande KD, Williams PJL, Marra J, Purdie DA, Heinemann K, Eppley RW, Bender ML (1989) Primary production in the North Pacific gyre: a comparison of rates determined by the 14-C, O₂ concentration and 18-O methods. Deep-Sea Research I 36:1621-1634
- Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M (1983) Methods of seawater analysis. 2nd ed.
- Greenberg AEA, Trussell RR, Clesceri LS, Franson MA (1985) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA, AWWA, WPCF, Washington. 16th ed.
- Grobbelaar JU (1985) Phytoplankton productivity in turbid waters. Journal of Plankton Research 7:653-663
- Grunditz C, Dalhammar G (2001) Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. Wat.Res. 35:433-440
- Guézennec L, Lafite R, Dupont J-P, Meyer R, Boust D (1999) Hydrodynamics of suspended particulate matter in the tidal freshwater zone of a macrotidal estuary (the Seine estuary, France). Estuaries 22(3A):717-727
- Hallegraeff GM, Jeffrey SW (1985) Description of new chlorophyll *a* alteration products in marine phytoplankton. Deep-Sea Research I 32:697-705

- Han B-P (2002) A mechanistic model of algal photoinhibition induced by photodamage to photosystem-II. *J.theor.Biol.* 214:519-527
- Harding LWJ, Meeson BW, Fisher TRJ (1986) Phytoplankton production in two east coast estuaries: photosynthesis-light functions and patterns of carbon assimilation in Chesapeake and Delaware Bays. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 23:773-806
- Heip CHR, Goosen N, Herman PMJ, Kromkamp J, Middelburg JJ, Soetaert K (1995) Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 33:1-149
- Henley WJ, Major KM, Hironaka JL (2002) Response to salinity and heat stress in two halotolerant chlorophyte algae. *Journal of Phycology* 38:757-766
- Hildebrand M (2002) Lack of coupling between silicon and other elemental metabolisms in diatoms. *Journal of Phycology* 38:841-843
- Hobson LA, Morris WJ, Pirquet KT (1976) Theoretical and experimental analysis of the ^{14}C technique and its use in studies of primary production. *Journal of the Fisheries Research Board Canada* 33:1715-1721
- IOC - SCOR (1994) Protocols for the joint global ocean flux study (JGOFS) core measurements. In: UNESCO (ed) Manual and Guides.
- Irigoién X, Castel J (1997) Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44:507-517
- Jassby AD, Platt T (1976) Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol.Oceanogr.* 21:540-547
- Justic D, Rabalais NN, Turner RE (1995) Stoichiometric nutrient balance and origin of coastal eutrophication. *Marine Pollution Bulletin* 30:41-46
- Kana TM, Geider RJ, Critchley C (1997) Regulation of photosynthetic pigments in micro-algae by multiple environmental factors: a dynamic balance hypothesis. *New Phytologist* 137:629-638
- Karl DM, Bidigare RR, Letelier RM (2002) Sustained and aperiodic variability in organic matter production and phototrophic microbial community structure in the North Pacific Subtropical Gyre. In: Williams PJI, Thomas DN, Reynolds CS (eds) *Phytoplankton productivity: carbon assimilation in marine and freshwater ecosystems*. Blackwell Science, p 222-264
- Keller AA (1988) Estimating phytoplankton productivity from light availability and biomass in the MERL mesocosms and Narragansett Bay. *Mar Ecol Prog Ser* 45:159-168
- Kies L (1997) Distribution, biomass and production of planktonic and benthic algae in the Elbe estuary. *Limnologica* 27:55-64
- Kirk JTO (1994) *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge University Press, 2nd ed.
- Koroleff F (1976) Determination of ammonia. In: Grasshoff K (ed) *Methods of seawater analysis*. p 126-133

- Kovalak WP, Longton GD, Smith D (1993) Infestation of power plant water systems by the zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas). In: Nalepa TF, Schloesser DW (eds) Zebra mussels: biology, impacts, and control. Lewis, p 359-380
- Kromkamp J, Peene J (1995) Possibility of net phytoplankton primary production in the turbid Schelde Estuary (SW Netherlands). *Mar.Ecol.Prog.Ser.* 121:249-259
- Kromkamp J, Peene J, van Rijswijk P, Sandee A, Goosen N (1995) Nutrients, light and primary production by phytoplankton and microphytobenthos in the eutrophic, turbid Westerschelde estuary (The Netherlands). *Hydrobiologia* 311:9-19
- Lancelot C, Hannon E, Becquevort S, Veth C, de Baar HJW (2000) Modeling phytoplankton blooms and carbon export production in the Southern Ocean: dominant controls by light and iron in the Atlantic sector in Austral spring 1992. *Deep-Sea Research I* 47:1621-1662
- Lancelot C, Mathot S, Owens NJP (1986) Modelling protein synthesis, a step to an accurate estimate of net primary production: *Phaeocystis pouchetii* colonies in Belgian coastal waters. *Mar.Ecol.Prog.Ser.* 32:193-202
- Lancelot C, Rousseau V, Billen G, Van Eeckhout D (1997) Coastal eutrophication of the southern bight of the North Sea: assessment and modelling. NATO Advanced Research Workshop on "Sensitivity of North Sea, Baltic Sea and Black Sea to anthropogenic and climatic changes" (14 – 18 November 1995).NATO-ASI Series.439-454
- Lancelot C, Veth C, Mathot S (1991) Modelling ice-edge phytoplankton bloom in the Scotia-Weddell sea sector of the Southern Ocean during spring 1988. *Journal of Marine Systems* 2:333-346
- Landry MR, Hassett RP (1982) Estimating the grazing impact of marine micro-zooplankton. *Marine Biology* 67:283-288
- Langdon C (1988) On the causes of interspecific differences in the growth-irradiance relationship for phytoplankton. II. A general review. *Journal of Plankton Research* 10:1291-1312
- Langdon C (1993) The significance of respiration in production measurements based on oxygen. ICES mar.Sci.Symp. 197:69-78
- Larcy, A. Apports de la turbidimétrie en continu et du modèle "Vortex Drag" à l'évaluation des processus de transport solide en suspension dans l'estuaire de l'Escaut. 2004. Mémoire à l'ULB (prof. Verbanck).
- Lewis MR, Smith JC (1983) A small volume, short-incubation-time method for measurement of photosynthesis as a function of incident irradiance. *Mar Ecol Prog Ser* 13:99-102
- Lewitus AJ, Kana TM (1995) Light respiration in six estuarine phytoplankton species: contrasts under photoautotrophic and mixotrophic growth conditions. *Journal of Phycology* 31:754-761
- Litaker W, Duke CS, Kenney BE, Ramus J (1988) Diel chl a and phaeopigment cycles in a shallow tidal estuary: potential role of microzooplankton grazing. *Mar Ecol Prog Ser* 47:259-270
- Litaker W, Duke CS, Kenney BE, Ramus J (1993) Short-term environmental variability and phytoplankton abundance in a shallow tidal estuary. II. Spring and fall. *Mar Ecol Prog Ser* 94:141-154

- Lizon, F. and Lagadeuc, Y. Short communication. Comparisons of primary production values estimated from different incubation times in a coastal sea. *Journal of Plankton Research* 20, 371-381. 1998.
- Macedo MF, Duarte P, Ferreira JG (2002) The influence of incubation periods on photosynthesis-irradiance curves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 274:101-120
- Macedo MF, Ferreira JG, Duarte P (1998) Dynamic behaviour of photosynthesis-irradiance curves determined from oxygen production during variable incubation periods. *Mar.Ecol.Prog.Ser.* 165:31-43
- MacIntyre HL, Cullen JJ (1996) Primary production by suspended and benthic microalgae in a turbid estuary: time-scales of variability in San Antonio Bay, Texas. *Mar Ecol Prog Ser* 145:245-268
- MacIntyre HL, Geider RJ (1996) Regulation of Rubisco activity and its potential effect on photosynthesis during mixing in a turbid estuary. *Mar Ecol Prog Ser* 144:247-264
- MacIntyre HL, Kana TM, Anning T, Geider RJ (2002) Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria (Review). *Journal of Phycology* 38:17-38
- Mague TH, Friberg E, Hughes DJ, Morris I (1980) Extracellular release of carbon by marine phytoplankton: a physiological approach. *Limnol.Oceanogr.* 25:262-279
- Malinsky-Rushansky NZ, Legrand C (1996) Excretion of dissolved organic carbon by phytoplankton of different sizes and subsequent bacterial uptake. *Mar Ecol Prog Ser* 132:249-255
- Mallin MA, Paerl HW (1992) Effects of variable irradiance on phytoplankton productivity in shallow estuaries. *Limnol.Oceanogr.* 37:54-62
- Maris T, Van Damme S, Meire P (Red) (2003) Onderzoek naar de gevolgen van het Sigmaplan, baggeractiviteiten en havenuitbreiding in de zeeschelde op het milieu. Geïntegreerd eindverslag van het onderzoek verricht in 2002. Rapport bestek nr. 16 EI/01/37. Universiteit Antwerpen, Antwerpen.
- Marra J (2002) Approaches to the measurement of plankton production. In: Williams PJL, Thomas DN, Reynolds CS (eds) *Phytoplankton Productivity: Carbon Assimilation in Marine and Freshwater Ecosystems*. Blackwell Science Ltd, p 78-108
- Marra J, Haas LW, Heinemann KR (1988) Time course of C assimilation and microbial food-web. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 115:263-280
- Marwood CA, Smith REH, Furgal JA, Charlton MN, Solomon KR, Greenberg BM (2000) Photoinhibition of natural phytoplankton assemblages in Lake Erie exposed to solar ultraviolet radiation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57:371-379
- Masuda T, Polle JEW, Melis A (2002) Biosynthesis and distribution of Chl among the photosystems during recovery of the green alga Dunaliella salina from irradiance stress. *Plant Physiology* 128:603-614
- Maxwell DP, Laudenbach DE, Huner NPA (1995) Redox regulation of light-harvesting complex II and cab mRNA abundance in Dunaliella salina. *Plant Physiology* 109:787-795
- Melis A (1999) Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? *Trends in Plant Science* 4:130-135

- Middelburg JJ, Nieuwenhuize J (2000) Uptake of dissolved inorganic nitrogen in turbid, tidal estuaries. Mar Ecol Prog Ser 192:79-88
- Monroe, Weber-Shirk (1998) Laboratory research in environmental engineering. Cornell University.
- Moroney JV (2002) Carbon concentrating mechanisms in aquatic photosynthetic organisms: a report on CCM 2001. Journal of Phycology 37:928-931
- Muylaert K, Sabbe K (1996) *Cyclotella scaldensis* spec. nov. (Bacillariophyceae), a new estuarine diatom. Nova Hedwigia 63:335-345
- Muylaert K, Sabbe K (1999) Spring phytoplankton assemblages in and around the maximum turbidity zone of the estuaries of the Elbe (Germany), the Schelde (Belgium/The Netherlands) and the Gironde (France). Journal of Marine Systems 22:133-149
- Muylaert K, Sabbe K, Vyverman W (2000) Spatial and temporal dynamics of Phytoplankton communities in a freshwater tidal estuary (Schelde, Belgium). Estuarine, Coastal and Shelf Science 50:673-687
- Muylaert K, Van Kerckvoorde A, Vyverman W, Sabbe K (1997) Structural characteristics of phytoplankton assemblages in tidal and non-tidal freshwater systems: a case-study from the Schelde basin. Freshwater Biology 38:263-276
- Muylaert K, Van Mieghem R, Sabbe K, Tackx M, Vyverman W (2000) Dynamics and trophic roles of heterotrophic protists in the plankton of a freshwater tidal estuary. Hydrobiologia 432:25-36
- Muylaert K, Van Nieuwerburgh L, Sabbe K, Vyverman W (2002) Microphytobenthos communities of the brackish to freshwater tidal reaches of the Schelde estuary (Belgium). Belgian Journal of Botany 135:15-26
- Muylaert K, Van Wichelen J, Sabbe K, Vyverman W (2001) Effects of freshets on phytoplankton dynamics in a freshwater tidal estuary (Schelde, Belgium). Arch.Hydrobiol. 150:269-288
- Nsiala, C. Actinométrie chimique. Cas du sel de Reinecke. 2002. Mémoire de DES Hydrologie (prof. Lei Chou), ULg.
- Orellana MV, Perry MJ (1992) An immunoprobe to measure Rubisco concentrations and maximal photosynthesis rates of individual phytoplankton cells. Limnol.Oceanogr. 37:978-990
- Otero A, Vincenzini M (2004) *Nostoc* (cyanophyceae) goes nude: extracellular polysaccharides serve as a sink for reducing power under unbalanced C/N metabolism. Journal of Phycology 40:74-81
- Pahl-Wostl C, Imboden DM (1990) DYPHORA-a dynamic model for the rate of photosynthesis of algae. Journal of Plankton Research 12:1207-1221
- Pennock JR, Sharp JH (1986) Phytoplankton production in the Delaware Estuary: temporal and spatial variability. Mar Ecol Prog Ser 34:143-155
- Peters JJ (1972) Transports de sédiments dans l'estuaire de l'Escaut. Laboratoire de recherches hydrauliques Borgerhout-Anvers (cf Wollast 1976).
- Platt T, Gallegos CL, Harrison WG (1980) Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. J.Mar.Res. 38:687-701

- Plettinck S, Chou L, Wollast R (1994) Kinetics and mechanisms of dissolution of silica at room temperature and pressure. *Mineralogical Magazine* 58:728-729
- Post AF, Dubinsky Z, Wyman K, Falkowski PG (1985) Physiological responses of a marine planktonic diatom to transitions in growth irradiance. *Mar Ecol Prog Ser* 25:141-149
- Postma H (1980) Sediment transport and sedimentation. In: Olausson E, Cato I (eds) *Chemistry and Biogeochemistry of Estuaries*. John Wiley & Sons Ltd, p 153-186
- Press WH, Flannery BP, Teukolsky SA, Vetterling WT (1986) *Numerical Recipes: the art of scientific computing*. Cambridge University Press.
- Prézelin BB (1992) Diel periodicity in phytoplankton productivity. *Hydrobiologia* 238:1-35
- Ragueneau O, Lancelot C, Egorov V, Vervlimmeren J, Cociasu A, Déliat G, Krastev A, Daoud N, Rousseau V, Popovitchev V, Brion N, Popa L, Cauwet G (2002) Biogeochemical transformations of inorganic nutrients in the mixing zone between the Danube River and the North-western Black Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54:321-336
- Regnier P, Mouchet A, Wollast R, Ronday F (1998) A discussion of methods for estimating residual fluxes in strong tidal estuaries. *Continental Shelf Research* 18:1543-1571
- Reid PC, Lancelot C, Gieskes WWC, Hagmeier E, Weichert G (1990) Phytoplankton of The North Sea and its dynamics: a review. *Netherlands Journal of Sea Research* 26:295-331
- Reinfelder JR, Kraepiel AML, Morel FMM (2000) Unicellular C4 photosynthesis in a marine diatom. *Nature* 407:996-999
- Riebesell U, Wolf-Gladrow DA (2002) Supply and uptake of inorganic nutrients. In: Williams PJ, Thomas DN, Reynolds CS (eds) *Phytoplankton productivity: carbon assimilation in marine and freshwater ecosystems*. Blackwell Science, p 109-140
- Ruuska S, Andrews TJ, Badger MR, Hudson GS, Laisk A, Price GD, von Caemmerer S (1999) The interplay between limiting processes in C3 photosynthesis studied by rapid-response gas exchange using transgenic tobacco impaired in photosynthesis. *Functional Plant Biology* 25:859-870
- Sakshaug E, Bricaud A, Dandonneau Y, et al. (1997) Parameters of photosynthesis: definitions, theory and interpretation of results. *Journal of Plankton Research* 19:1637-1670
- Sarthou G, Timmermans KR, Blain S, Tréguer P (2005) Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research* 53: 25-42
- Schuchardt B, Schirmer M (1991) Phytoplankton maxima in the tidal freshwater reaches of two coastal plain estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 32:187-206
- Shelly K, Heraud P, Beardall J (2003) Interactive effects of PAR and UV-B radiation on PSII electron transport in the marine alga Dunaliella Tertiolecta (Chlorophyceae). *Journal of Phycology* 39:509-512
- Soetaert K, Herman PMJ (1994) One foot in the grave: zooplankton drift into the Westerschelde estuary (The Netherlands). *Mar Ecol Prog Ser* 105:19-29

- Soetaert K, Herman PMJ, Kromkamp J (1994) Living in the twilight: estimating net phytoplankton growth in the Westerschelde estuary (The Netherlands) by means of an ecosystem model (MOSES). *Journal of Plankton Research* 16:1277-1301
- Soetaert K, van Rijswijk P (1993) Spatial and temporal patterns of the zooplankton in the Westerschelde estuary. *Mar.Ecol.Prog.Ser.* 97:47-59
- Stafford DA, Hawkes DL, Horton R (1980) Methane production from waste organic matter. CRC press, inc.
- Steemann Nielsen E (1952) The use of radioactive carbon (C14) for measuring organic production in the sea. *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer (ICES)* 18:117-140
- Steemann Nielsen E (1975) Marine photosynthesis with special emphasis on the ecological aspects.
- Steemann Nielsen E, Hansen VKr (1959) Measurements with the carbon-14 technique of the respiration rates in natural populations of phytoplankton. *Deep-Sea Research I* 5:222-233
- Strickland JDH (1960) Measuring the production of marine phytoplankton. *Fish.Res.Bd.Can.* 122:172
- Strickland JDH, Parsons TR (1972) A practical handbook of seawater analyses.
- Stumm W, Morgan JJ (1996) Aquatic chemistry. Wiley Interscience. 3rd ed.
- Suggett D, Kraay G, Holligan P, Davey M, Aiken J, Geider RJ (2001) Assessment of photosynthesis in a spring cyanobacterial bloom by use of a fast repetition rate fluorometer. *Limnol.Oceanogr.* 46:802-810
- Sverdrup HU (1953) On conditions for the vernal blooming of phytoplankton. *J Cons Explor Mer* 18:287-295
- Swift DM, Wheeler AP (1992) Evidence of an organic matrix from diatom biosilica. *Journal of Phycology* 28:202-209
- Tilman D (1977) Resource competition between plankton algae: an experimental and theoretical approach. *Ecology* 58:338-348
- Tortell PD, Reinfelder JR, Morel FMM (1997) Active uptake of bicarbonate by diatoms. *Nature* 390:243-244
- Tyler JE (1968) The Secchi disc. *Limnol.Oceanogr.* 13:1-6
- Van Straaten L, Kuenen PH (1958) Tidal action as a cause for clay accumulation. *J.Sediment.Petrol.* 28.
- Vanderborght JP, Wollast R, Loijens M, Regnier P (2002) Application of a transport-reaction model to the estimation of biogas fluxes in the Scheldt estuary. *Biogeochemistry* 59:207-237
- Verbanck M (2003) Sediment-laden flows over fully-developed bedforms: first and second harmonics in a shallow, pseudo-2D turbulence environment. In: Jirka GH, Uijttewaal WSJ (eds) Shallow Flows. TU Delft, p II 231-II 236
- Verbanck M (2004) How fast can a river flow over alluvium ? *J.Hydraulic Research* (submitted).

- Verbanck MA (2004) Sand transport at high stream power: towards a new generation of 1D river models. In: Ying Tan (ed) Proc 9th Intnl Symp River Sedimentation, Yichang China. p 307-318
- Verity PG (1982) Effects of temperature, irradiance, and daylength on the marine diatom *Leptocylindrus danicus* Cleve. IV. Growth. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 60:209-222
- VMM (2003) Waterkwaliteit-Lozingen in het water 2002. Vlaamse Milieumaatschappij, Aalst.
- Weger HG, Herzig R, Falkowski PG, Turpin DH (1989) Respiratory losses in the light in a marine diatom: measurements by short-term mass spectrometry. Limnol.Oceanogr. 34 :1153-1161
- Williams PJI (1993a) On the definition of plankton production terms. ICES mar.Sci.Symp. 197:9-19
- Williams PJI (1993b) Chemical and tracer methods of measuring plankton production. ICES mar.Sci.Symp. 197:20-36
- Williams PJI, Lefèvre D (1996) Algal ^{14}C and total carbon metabolisms. 1.Models to account for the physiological processes of respiration and recycling. Journal of Plankton Research 18:1941-1959
- Williams PJI, Raine RCT, Bryan JR (1979) Agreement between the ^{14}C and oxygen methods of measuring phytoplankton production: reassessment of the photosynthetic quotient. Oceanologica Acta 2 :411-416
- Williams RB (1964) Division rates of salt marsh diatoms in relation to salinity and cell size. Ecology 45:877-880
- Wofsy SC (1983) A simple model to predict extinction coefficients and phytoplankton biomass in eutrophic waters. Limnol.Oceanogr. 28:1144-1155
- Wollast, R. Origines et mécanismes de l'envasement de l'estuaire de l'Escaut. 1973. Rapport de Synthèse. Ministère des Travaux Publics.
- Wollast R (1976) Transport et bilan de masse des polluants et des substances nutritives dans l'estuaire. Rapport final du Projet Mer. C.I.P.S. Bruxelles, volume 10 : l'estuaire de l'Escaut.
- Wollast R (1982) Behaviour of organic carbon, nitrogen and phosphorus in the Scheldt estuary. Thalassia Jugoslavica 18:11-34
- Wollast R (1988) The Scheldt estuary. In: Salomons W, Bayne BL, Duursma EK, Förstner U (eds) Pollution of the North Sea: an assessment. Springer-Verlag, p 183-193
- Wollast R, De Broe F (1971) Study of the behavior of dissolved silica in the estuary of the Scheldt. Geochimica et Cosmochimica Acta 35:613-620
- Wollast R, Peters JJ (1978) Biogeochemical properties of an estuarine system: the river Scheldt. Biogeochemistry of estuarine sediments. Proceeding of a UNESCO/SCOR Workshop-Melreux. p 279-293
- Wollast R, Vanderborght JP, Loijens M, Verbanck M, Regnier P (2001) Utilisation d'un modèle couplé hydrodynamique-biogéochimique en tant qu'instrument de gestion de la qualité des eaux d'un estuaire. Proceedings of the Third International Symposium « Environment, Catalysis and Process Engineering », Annales de Chimie des Matériaux, vol 26, Elsevier.

- Yallop ML, de Winder B, Paterson DM, Stal LJ (1994) Comparative structure, primary production and biogenic stabilization of cohesive and non-cohesive marine sediments inhabited by microphytobenthos. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 39:565-582
- Yentsch CS, Menzel DW (1963) A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-Sea Research I* 10:221-231
- Zonneveld C (1997) Modeling effects of photoadaptation on the photosynthesis-irradiance curve. *J.theor.Biol.* 186:381-388
- Zonneveld C (1998) Photoinhibition as affected by photoacclimation in phytoplankton: a model approach. *J.theor.Biol.* 193:115-123
- Zwolsman JJG (1994) Seasonal variability and biogeochemistry of phosphorus in the Scheldt estuary, South-west Netherlands. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 39:227-248

