



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES DES ORGANISMES ET ÉCOLOGIE

Approche de la lyse phytoplanctonique dans deux milieux eutrophes

Vogels, Virginie

Award date:
2002

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



**FACULTÉS UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX
NAMUR**



Faculté des Sciences

Approche de la lyse phytoplanctonique dans deux milieux eutrophes

**Mémoire présenté pour l'obtention du grade de
licencié en Sciences biologiques**

Virginie VOGELS

Août 2002

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
FACULTE DES SCIENCES
Secrétariat du Département de Biologie
Rue de Bruxelles 61 - 5000 NAMUR
Téléphone: + 32(0)81.72.44.18 - Téléfax: + 32(0)81.72.44.20
E-mail:joelle.jonet@fundp.ac.be - <http://www.fundp.ac.be/fundp.html>

Approche de la lyse phytoplanctonique dans deux milieux eutrophes

VOGELS Virginie

Résumé

Ce travail a consisté en la mise au point méthodologique de la mesure du taux de lyse algale, basée sur des travaux réalisés en milieu marin. Elle a été appliquée au phytoplancton de deux milieux eutrophes, un milieu lacustre, le lac de Falemprise et un milieu fluvial, la haute Meuse belge à Tailfer. Nous avons en même temps procédé à des mesures de production primaire et de production bactérienne, depuis avril jusque fin juin 2002.

La méthode de détermination du taux de lyse est basée sur la mesure de l'activité d'enzymes cytoplasmiques, les estérases, libérées dans le milieu au cours du temps après une rupture cellulaire. La mesure du taux de lyse nécessite la connaissance du taux d'estérases intracellulaires (AEI, pour « activité estérasique interne »), qui pourrait varier en fonction de l'appartenance taxonomique des algues et de leur état physiologique. Nous avons pu déterminer un rapport moyen d'AEI/Chla pour une diatomée, *Cyclotella meneghiniana*, qui était de 13,3 nmoles de fluorescéine/ μg Chla.h. Le taux de lyse obtenu pour le lac de Falemprise varie entre 0,002 et 0,058 j^{-1} ; en Meuse à Tailfer, il fluctue entre 0,0007 et 0,0392 j^{-1} . Pour la Meuse, l'évolution du taux de lyse évolue assez logiquement en fonction de la biomasse et de la production algales. Nous pensons cependant que la méthode d'estimation du taux de lyse peut encore à être améliorée, en particulier au niveau de la mesure de l'activité estérasique dissoute. Il nous semble notamment important de vérifier la stabilité du substrat (FDA), qui peut subir une hydrolyse non enzymatique, de déterminer le tampon idéal pour les différentes mesures d'activité, d'en déterminer sa concentration et de vérifier les variations suivant le pH et la température.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Août 2001

Promoteur: J.-P. DESCY

Je remercie le professeur J.-P. Descy de m'avoir accueillie au sein du laboratoire d'écologie des eaux douces et d'avoir supervisé mon travail.

Je remercie Hugo, dit « Tata Huguette », de m'avoir guidée sur les chemins tortueux de la lyse et du phytoplancton malgré le fait qu'il soit plutôt un oiseau de nuit ...

Un gargantuesque merci à François qui m'a beaucoup aidée et encouragée tout au long de mes quatre années d'études, et plus particulièrement lors de la réalisation de ce mémoire. Les futurs étudiants n'auront peut être plus cette occasion. Quel regret !

Un grand merci à Bruno, Laurent, Claude et Samuel pour leurs innombrables conseils.

Un grand merci aussi à Thierry, pour les bonnes parties de plaisir sur le bateau lors des dures journées de terrain.

Merci à Yves et à toutes les personnes du laboratoire qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci aux membres du jury d'avoir accepté de lire mon mémoire.

Sans oublier de remercier Marie, Anne-Laurence Tarbé, Virginie, Olga, Sarah, Gégé, Laetitia, Moise, Gams, Dav' et Plage pour leur aide. Et bravo à David pour avoir battu tous les records de bide ...

Un p'tit clin d'œil à Kris et Christelle en souvenir des nombreux éclats de rire ...

Enfin, je réserve mes plus tendres remerciements à ma maman, qui m'a donné l'occasion de réaliser ces études et qui a toujours eu les mots qu'il fallait quand il le fallait, à Johnny, qui s'est préoccupé de moi et de l'ensemble de mes travaux, et à Pascal et Vincent qui, à leur manière, m'ont toujours soutenue ...

A tous MERCI

Virginie

Sommaire

Résumé	
Remerciements	
Sommaire	

I. Introduction générale	1
1. La boucle microbienne	1
1.1. La chaîne trophique linéaire	1
1.2. Le concept de boucle microbienne	1
1.3. Les formes et l'utilisation du carbone	2
1.3.1. Les formes de carbone	2
1.3.1.1. Le carbone inorganique	2
1.3.1.2. Le carbone organique	2
1.3.2. Utilisation du carbone	3
1.3.2.1. Utilisation du carbone inorganique et synthèse de carbone organique	3
▪ La fixation autotrophe	4
▪ La fixation hétérotrophe	4
1.3.2.2. Utilisation du carbone organique	4
1.4. La relation production primaire et biomasse bactérienne	5
1.4.1. La production primaire	5
1.4.2. La production et biomasse bactérienne	5
1.4.3. Couplage phytoplancton-bactéries	6
1.5. Les sources autochtones de matière organique dissoute et leur réassimilation bactérienne	7
1.5.1. La mortalité naturelle	7
1.5.2. Le sloppy feeding	8
1.5.3. L'excrétion phytoplanctonique	8
2. La lyse phytoplanctonique	10
2.1. Introduction	10
2.2. Facteurs responsables de la lyse cellulaire	11
2.3. Principe de la quantification de la lyse phytoplanctonique	12
2.4. Mesure du taux de lyse cellulaire	13
2.5. Temps de demi-vie	13
2.6. Conclusions de la littérature	14
3. Objectif du mémoire	14

II. Matériel et Méthodes	15
1. Milieux étudiés	15
▪ Lacs de l'Eau d'Heure	15
▪ La Meuse belge	16
2. Mesure des paramètres généraux	17
2.1. Température, pH et oxygène dissous	17
2.2. Alcalinité	17
2.3. Transparence de l'eau	17
2.4. Analyse des nutriments	18
▪ Dosage de l'ammonium	18
▪ Dosage des nitrites et nitrates	18
▪ Dosage de la silice	18
▪ Dosage des orthophosphates	18
3. Etude du phytoplancton	19
3.1 Biomasse phytoplanctonique	19
3.1.1. Dosage de la Chlorophylle α en spectrophotométrie (Péchar, 1987)	19
3.1.2. Dosage des pigments en HPLC	19
3.1.3. Dosage du carbone	22
3.2. La production primaire	22
4. Mesure du taux de lyse cellulaire	25
4.1. Principe de la méthode	25
4.2. Mesure de l'activité estérasiqye dissoute (AED)	25
4.2.1. Mode opératoire	25
4.2.2. Droite de calibration	26
4.3. Mesure de l'activité estérasiqye interne (AEI)	26
4.3.1. Introduction	26
4.3.2. Cultures d'algues	26
4.3.3. Mesure AEI	28
▪ Méthode de sonication	28
▪ Méthode du lysozyme	28
4.4. Calcul du taux de lyse cellulaire journalier	29
5. Mesure de la production bactérienne	30
5.1. Introduction	30
5.2. Méthode	30

III. Résultats et Discussion	32
A. Falemprise.....	32
1. Mesure des paramètres généraux	32
1.1. Température, pH, oxygène dissous et conductivité	32
1.2. Analyse des nutriments	33
2. Etude du phytoplancton	34
2.1. Biomasse phytoplanctonique	34
2.2. Composition phytoplanctonique	35
2.3. Production primaire	36
B. Tailfer	39
1. Mesure des paramètres généraux	39
1.1. Température et pH	39
1.2. Analyse des nutriments	40
2. Etude du phytoplancton	40
2.1. Biomasse phytoplanctonique	40
2.2. Composition phytoplanctonique	41
2.3. Production primaire	42
C. Lyse cellulaire et production bactérienne	44
1. Détermination de l'activité estérasiq. interne (AEI)	44
▪ Méthode de sonication	44
▪ Méthode du lysozyme	46
2. Détermination du taux de lyse	47
▪ Falemprise	47
▪ Tailfer	49
3. Détermination de la production bactérienne	51
▪ Falemprise	51
▪ Tailfer	53
IV. Conclusions et Perspectives	56
Liste des abréviations	58
Références bibliographiques	59
Annexes	



Namur, le 23 août 2002

Aux promoteurs, co-promoteurs et
lecteurs de mémoires en Biologie de
2nde session 2001-2002.

FUNDP
Faculté des Sciences
Département de Biologie
Prof. J.-P. Descy,
Secrétaire académique

Rue de Bruxelles, 61
B-5000 Namur
Tél. +32 (0)81 72.44.05
Fax +32 (0)81 72.44.20
E-mail jean-pierre.descy@fundp.ac.be

N/Réf : JPD/jj/GS/MémL2/01-02/33

Concerne : Horaire présentation mémoires 2nde licence Biologie – 2nde session.

Cher(e) Collègue,

Veuillez trouver ci-joint, un tableau récapitulatif reprenant les comités de lecture, les titres et l'horaire des mémoires en Biologie qui seront présentés le **vendredi 30 août** prochain dans l'auditoire **M5**. La délibération du jury de cotation est prévue après le dernier exposé, dans l'auditoire **B6**. Si l'un ou l'autre problème se posait, voudriez-vous m'en informer (ext. 4405) le plus rapidement possible.

Afin de juger plus objectivement le travail des étudiants, l'évaluation des mémoires se traduira par deux notes : l'une relative au manuscrit et l'autre, à la défense orale; **chacune** cotée sur **20**. Les promoteurs et co-promoteurs établiront en concertation, une cote commune unique. Si, pour une raison de force majeure, un membre du jury se trouvait dans l'impossibilité d'être présent à la délibération, voudrait-il me remettre **avant la défense**, sa cotation du manuscrit accompagnée d'un commentaire explicite.

Je vous rappelle que les contacts avec les membres extérieurs(*) aux FUNDP sont du ressort du promoteur ou du co-promoteur.

Avec mes sentiments les meilleurs,

Prof. J.-P. DESCY,
Secrétaire académique du département

Annexe.

ERRATA

p 7, dernière ligne : Selon Dajoz (...) et 6 % d'espèces superprédatrices, sans prédateur.

p 8, troisième ligne : Il a été démontré que (...) les prédateurs vertébrés (...).

p 17, section 2.1.3.2., § 2 : Son régime alimentaire (...) et des classes de tailles (...).

p 18, avant dernière ligne : En effet, (...) et, bien sûr, (...).

p 73 : Figure III.22: (50 pelotes).

p 75 :

espèce	%	prédation (kg)
Gardon	26,6	8174,6
Brème commune	0,1	19,5
Brème bordelière	3,2	972,0
Ablette commune	0,0	5,5
Rotengle	0,8	231,5
Ablette / Rotengle	0,2	63,2
Goujon	12,8	3937,9
Carpe commune	0,3	100,4
Chevaine	0,9	291,1
Vairon	0,0	0,0
Hotu	0,0	0,0
Cyprinidés indét.	3,9	1194,6
Perche commune	24,3	7454,4
Sandre	1,9	587,4
Grémille	8,7	2667,4
Anguille	16,2	4962,7

HORAIRE PRÉSENTATION MÉMOIRES 2^{de} LICENCE en BIOLOGIE - 2^{de} Session 2001-2002 - Auditoire M5

Jour	Heure	Nom et prénom	Promoteur & Copromoteur	Directeur/ Tuteur	Thème du mémoire	Lecteurs
Vendredi 30 août	12h00	DRUART Xavier	KESTEMONT P.	Blanchard G.	Variations saisonnières de la composition lipique et du statut hépatique chez la perche, <i>Perca fluviatilis</i> L., au cours d'un cycle annuel de reproduction en milieu naturel.	M.-C. Huynen R. Mandiki R. Paquay A. Piront
Vendredi 30 août	12h30	NYINA-WAMWIZA Laetitia DEC ETEC	KESTEMONT P.		Determination du rapport protéine/énergie optimal dans le régime alimentaire des juvéniles de sandre <i>Sander lucioperca</i> (L. 1758).	R. Mandiki Ch. Mélard* (ULg) R. Paquay X. Xu
Vendredi 30 août	13h00	De MONTPELLIER Géraldine Erasmus FUNDP, Centre Erken à Uppsala, Suède	DESCY J.-P. Petterson K. (Univ. Uppsala)		Grazing impact on périphyton	C. Cornet F. Darchambeau P. Van Cutsem C. Fauville
Vendredi 30 août	13h30	HARDY Marie-Astrid	DESCY J.-P.		Etude de l'écologie du phytoplancton du Lac Tanganyika : photosynthèse, production et excrétion.	C. Cornet E. Depiereux P.-D. Plisnier L. Viroux
Vendredi 30 août	14h00	VOGELS Virginie	DESCY J.-P.		Approche de la lyse phytoplantonique dans deux milieux eutrophes.	F. Darchambeau J.-J. Letesson P. Servais (ULB) L. Viroux
Vendredi 30 août	14h30	DOMBRET Carlos	JADOT M.	Hamer I.	Biosynthèse de la catépsine D dans des cellules HepG2 Effet d'une surcharge lysosomale.	R.-M. Delrue Y. Poumay J. Remacle O. Toussaint
Vendredi 30 août	15h00	DAEMS Alexandre	VAN CUTSEM P.	Liners F.	Allocation du carbone entre polysaccharides pariétaux et de réserve chez les végétaux : détection immunologique de la sucrose synthase et de l'ADP-glucose pyrophosphorylase chez <i>Cichorium intybus</i> L.	A. Decreux J.-J. Letesson S. Pirotton G. Trausch
Vendredi 30 août	15h30	FISSE Jérôme	DEPIEREUX E. De Bolle X.		Etude des différentes méthodes permettant de retrouver des sites d'atterrissage pour facteur de transcription et élaboration d'une nouvelle méthode de recherche de sites d'atterrissage.	Ch. Lambert P. Lestrade J. Messiaen D. Demonté* (ULB)
Vendredi 30 août	16h30				DÉLIBÉRATION DU JURY DE COTATION DANS L'AUDITOIRE B6	

HORAIRE PRÉSENTATION MÉMOIRES 2^{de} LICENCE en BIOLOGIE - 2^{de} Session 2001-2002 - Auditoire M5

Jour	Heure	Nom et prénom	Promoteur & Copromoteur	Directeur/ Tuteur	Thème du mémoire	Lecteurs
Vendredi 30 août		LAMBERT John	REMACLE J. Toussaint O.	Zammatteo N.	La présentation de ce mémoire est reportée.	S. Bamps Ph. Coppe J.-P. Descy L. Pochet
Vendredi 30 août	08h00	GILLARDIN Virginie <i>P bon saurot</i>	KESTEMONT V. Letesson J.-J.		Influence de l'atrazine en contamination chronique sur les systèmes reproducteur et immunitaire des juvéniles du carassin doré <i>Carassius auratus auratus</i> .	J.-L. Bister Ph. Coppe R. Mandiki L. Spano
Vendredi 30 août	08h30	BAURAING Caroline	LETESSON J.-J.	Lestrade P.	<i>Brucella melitensis</i> 16M et les gènes intervenant dans le métabolisme de la rhizopine.	J.-L. Bister J. Messiaen C. Michiels Th. Pascal
Vendredi 30 août	09h00	ROUPIE Virginie Erasmus - France	LETESSON J.-J. Godfroid J.* (SERVA)		Développement d'outils de diagnostic pour le contrôle de la paratuberculose bovine : Détection d'anticorps polyclonaux dans des échantillons de sérum et de colostrum à l'aide d'un ELISA et production d'anticorps monoclonaux.	Ph. Coppe J.-C. Dujardin S. Warnon F. Wergifosse
Vendredi 30 août	09h30	TARBE Anne-Laure	MICHA J.-C.		Etude du régime alimentaire du Grand Cormoran <i>Phalacrocorax carbo sinensis</i> Blum., hivernant dans le bassin mosan belge.	N. Dauchot J.-P. Descy P. Kestemont J.-Y. Paquet* (FUSAGx)
Vendredi 30 août	10h00	DELFORGE David	MICHA J.-C.	Prignon C.	Caractérisation des différents phénotypes de truites (<i>Salmo trutta</i> L.) juvéniles migrantes dans le bassin mosan belge.	N. Dauchot P. Gérard* (Rég Wal Gx) P. Kestemont P. Mergen* (ULB)
Vendredi 30 août	10h30	SAMAILA Sahailou DEC ETEC	MICHA J.-C. Jacob J.-P.* (Aves)		Méthodologie d'inventaire du grèbe castagneux (<i>Tachybaptus ruficollis</i>), distribution et occupation des habitats dans le bassin de la Meuse namuroise.	E. Depiereux V. Hallet J.-Y. Paquet* (FUSAGx) F. Silvestre
Vendredi 30 août	11h00	DEGALLAIX Stéphane	MERCIER M. Huynen M.-C.		Contribution à l'étude de l'écologie alimentaire des gorilles des plaines occidentales (<i>Gorilla gorilla gorilla</i>) dans le Parc national d'Odzala, République du Congo	P. Kestemont Ch. Malbrouck J.-C. Micha V. Royer
Vendredi 30 août	11h30	GUAUETTA Géraldine	BISTER J.-L. Paquay R.		Transfert d'embryons chez le mouton : première approche.	P. Devos J.-M. Debry* (IPG) M.-C. Huynen R. Mandiki

Introduction générale

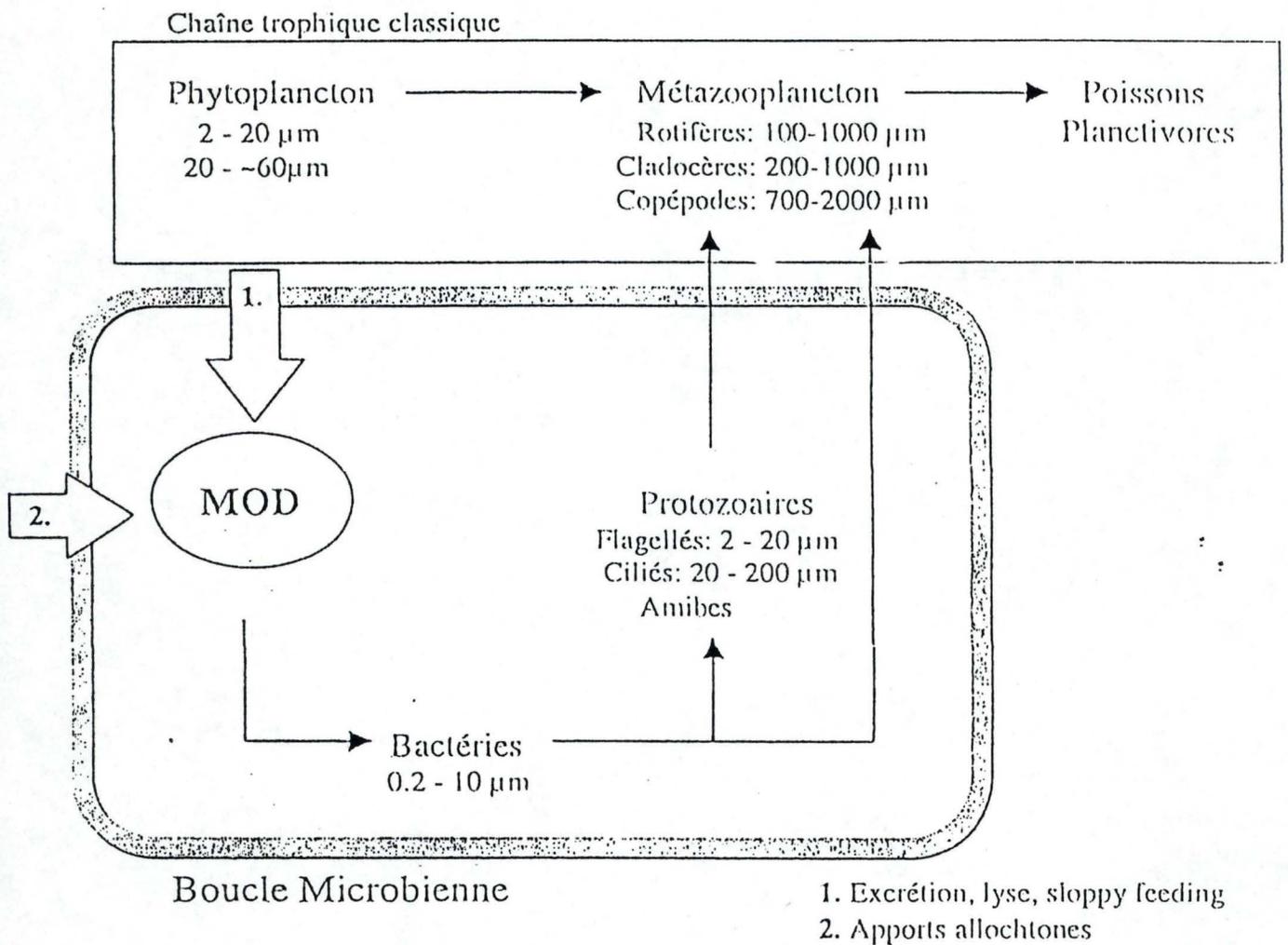


Figure 1 : Représentation schématique de la boucle microbienne.
Relations trophiques entre les divers constituants du plancton.
Avec MOD : Matière Organique Dissoute
(alimentée aussi par la lyse cellulaire de tous les organismes planctoniques).
Rem. : Il existe aussi des interactions au sein d'un même niveau trophique
(ex. : cannibalisme, prédation, ...)

I. Introduction générale

1. La boucle microbienne

1.1. La chaîne trophique linéaire

Depuis de nombreuses années, l'organisation trophique pélagique est présentée de façon linéaire. Ce concept propose la succession classique des producteurs primaires (le phytoplancton), consommateurs primaires (le zooplancton herbivore), consommateurs secondaires (le zooplancton carnivore), ... avec un rôle central pour le zooplancton herbivore car il consomme une part majeure de la production phytoplanctonique et il sert de ressource alimentaire principale pour les poissons pélagiques.

Pendant cette période, le bactérioplancton était considéré comme un facteur ayant une influence mineure sur le reste du réseau trophique planctonique (Steele 1974), les bactéries n'intervenant que dans le recyclage des nutriments.

Dans les années 1980, des recherches ont permis de constater que ce concept linéaire devait être revu à cause de nouvelles données. En effet, une part importante de la biomasse des hétérotrophes était constituée de bactéries et elles avaient une surface réactive plus importante que le reste de la communauté planctonique (Williams, 1981).

Cole et al. (1988) ont estimé que la biomasse bactérienne représentait un compartiment très actif de l'écosystème. Ainsi, les bactéries hétérotrophes utilisent une part importante du carbone fixé via la photosynthèse par les organismes phototrophes.

Ils ont montré que la production bactérienne pouvait atteindre au moins 20% de la production primaire, ce qui représente le double de la production du macrozooplancton. Cette production bactérienne repose sur les apports en matières organiques dissoutes assimilables par les bactéries, essentiellement produite par les autotrophes photosynthétiques au cours de leur vie (excrétion) ou lors de la mort cellulaire (lyse).

1.2. Le concept de boucle microbienne

Les observations faites par Cole et al. (1988) vont à l'encontre de l'idée classique d'une chaîne trophique linéaire qui conduirait directement des producteurs primaires aux poissons par l'intermédiaire du zooplancton. Au contraire, il semble que les bactéries jouent un rôle important, tant dans le recyclage des éléments nutritifs que dans le transfert d'une partie de la production primaire vers les niveaux trophiques supérieurs via un réseau trophique complexe appelé boucle microbienne (Azam et al., 1983).

Dans le schéma de la boucle microbienne ci-contre (Figure 1), on voit qu'il existe des apports de matière organique dissoute (MOD) via l'excrétion, le sloppy feeding et la lyse du phytoplancton (2-20µm et 20-60µm) et des apports allochtones. Ces MOD sont utilisées par

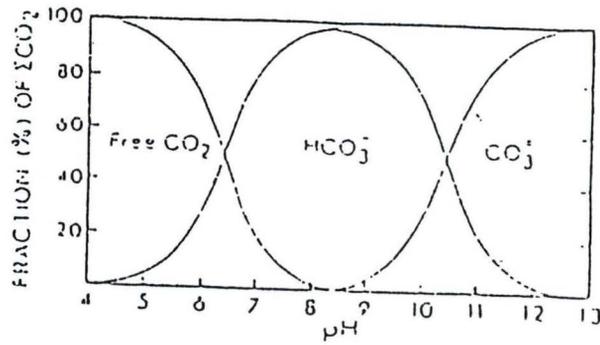


Figure 2 : Relations entre le pH et les différentes formes de carbone inorganique

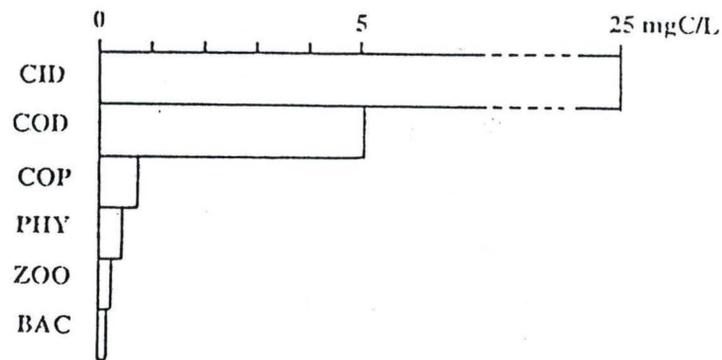


Figure 3 : Distribution du carbone inorganique et des différentes fractions du carbone organique (valeurs moyennes annuelles en mgC/l) dans un lac peu profond mésotrophe (lac de Créteil, France). Carbone inorganique dissous (CID), carbone organique dissous (COD), carbone organique particulaire détritique (COP), phytoplancton (PHY), zooplancton (ZOO), bactéries (BAC). Le carbone organique particulaire détritique est relativement faible, l'essentiel du carbone organique particulaire se situant dans les organismes vivants. (D'après Garnier et Lavandier, 1995)

les bactéries (0.2-10 μ m), bactéries qui alimentent les protozoaires (flagellés 2-20 μ m, ciliés 20-200 μ m et amibes). Le métazooplancton (rotifères 100-1000 μ m, cladocères 200-1000 μ m et copépodes 700-2000 μ m) se nourrit en même temps du phytoplancton, des protozoaires et des bactéries. Le métazooplancton est ensuite consommé par des prédateurs vertébrés ou invertébrés du niveau trophique supérieur.

Cette boucle microbienne au sein de la chaîne trophique conventionnelle assure un meilleur recyclage de la matière organique et des nutriments.

Même si les multiples interactions entre les niveaux trophiques augmentent les pertes entre deux niveaux trophiques par la respiration, la boucle microbienne permet une restitution d'une partie du carbone organique dissous que l'on pensait perdu (Sherr et al., 1987).

De nombreuses études sur la boucle microbienne ont été réalisées, notamment ces quinze dernières années, grâce aux progrès techniques effectués en écologie microbienne. Cependant, ces travaux s'appliquent essentiellement sur les boucles microbiennes des milieux marins et des milieux lacustres, peu sur les milieux fluviaux.

1.3. Les formes du carbone et leur utilisation

1.3.1. Les formes de carbone

1.3.1.1. Le carbone inorganique

Les différentes formes de carbone inorganique présentes dans l'eau proviennent d'une part de processus physiques (échanges avec l'atmosphère, dissolution, précipitation) et d'autre part de processus biochimiques (production primaire, respiration). Le CO₂ présent dans l'eau, s'hydrate pour former de l'acide carbonique qui se dissocie en ions bicarbonate et carbonate. Le cycle du carbone inorganique est très lié aux valeurs de pH, lui-même fonction de la production primaire (Figure 2). Dans la plupart des écosystèmes limniques, le pH varie entre 6 et 9, le bicarbonate domine (Pourriot et Meybeck, 1995).

1.3.1.2. Le carbone organique

Il existe une très large variation dans la proportion des divers composés de matière organique d'un système à l'autre. Dans un milieu aquatique, la matière organique biodégradable est soit produite sur place par la production primaire (matière organique autochtone) soit apportée de l'extérieur par des apports de matière organique allochtone produite en milieu terrestre (pour les lacs et les rivières) ou dans un secteur amont (dans un cours d'eau).

La matière organique autochtone particulière comprend : des organismes vivants, des bactéries, des animaux (zooplancton et zoobenthos) et des végétaux mais aussi leurs formes à différents stades de dégradation (Pourriot et Meybeck, 1995). La fraction vivante ne représente généralement qu'une faible part du carbone organique total (Figure 3) (Wetzel, 1983 ; Garnier, 1989).

Le stock de matière organique dissoute comporte d'une part une fraction importante, peu biodégradable, constituée de matières humiques provenant des sols du bassin versant et d'autre part une autre fraction, assimilable par les bactéries hétérotrophes. Cette dernière est alimentée par les produits intermédiaires de la décomposition de la matière organique particulaire et par les composés excrétés par les organismes (algues et macrophytes notamment) lors de leur croissance. L'excrétion de matière organique par le phytoplancton varie dans une large gamme en fonction des conditions de l'environnement et de la physiologie des organismes. Elle représente de 1 à 50 % du carbone total fixé par la photosynthèse (Wood et al., 1992). L'excrétion des végétaux fixés est du même ordre, estimée à environ 10 % du carbone total fixé par la photosynthèse (Sondergaard, 1982 ; Wetzel, 1983).

Enfin, dans les milieux soumis à un impact humain, la matière organique allochtone rejetée directement dans le système contient une fraction importante (de l'ordre de 60 %) de matière organique biodégradable, tant particulaire que dissoute (Servais et Garnier, 1993).

1.3.2. Utilisation du carbone

Pour la biosynthèse des constituants cellulaires, de l'énergie et du carbone sont nécessaires. Chez les phototrophes, l'énergie est procurée par le rayonnement électromagnétique absorbé par les pigments photosynthétiques alors que les chimiotrophes dépendent d'une source d'énergie chimique.

Du point de vue de la source nutritive carbonée, on distingue chez les micro-organismes aquatiques deux grands types de métabolismes : autotrophes et hétérotrophes.

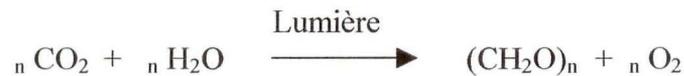
Les organismes capables d'utiliser le CO_2 comme source majeure de carbone sont appelés autotrophes et ceux qui dépendent d'une source de carbone organique sont appelés hétérotrophes.

Les végétaux, algues et macrophytes (photoautotrophes), les animaux, les protozoaires et les champignons (chimiohétérotrophes) ont des métabolismes spécialisés. En revanche, les bactéries sont capables d'utiliser les divers types d'énergie et de nutriments qui leur permettent d'intervenir à tous les niveaux dans le fonctionnement des écosystèmes.

1.3.2.1. Utilisation du carbone inorganique et synthèse de carbone organique

La synthèse de matière organique à partir du CO_2 est assurée par les végétaux et par les cyanobactéries via la photosynthèse. C'est un processus qui se déroule en deux étapes. La première, la phase claire, transforme l'énergie lumineuse absorbée par les pigments photosynthétiques en énergie chimique et libère de l'oxygène. La seconde, la phase sombre, utilise l'ATP fournie par la phase claire pour réduire le CO_2 fixé par le cycle de Calvin et le transforme en carbone organique.

Le résultat de la photosynthèse peut se résumer comme suit :



▪ La fixation autotrophe

Le CO_2 dissous dans l'eau est la source principale de carbone. Les bactéries autotrophes oxydent les composés inorganiques réduits tels que : NH_4^+ qui est oxydé en NO_2^- (Nitrification) et NO_2^- oxydé en NO_3^- (Nitratation, qui couplée à la nitrification forme la nitrification).

Un ensemble de bactéries chimiolithoautotrophes utilise le CO_2 comme principale, voire unique, source de carbone en tirant leur énergie de composés inorganiques tels l' H_2 , le CH_4 , les composés soufrés, H_2S , S_2O_3 , azoté ou encore le fer réduit. Ces bactéries se retrouvent à la limite des zones aérobies et anaérobies où elles bénéficient à la fois d' O_2 et des éléments réducteurs nécessaires à leur métabolisme.

▪ La fixation hétérotrophe

Le CO_2 est aussi incorporé directement par les bactéries hétérotrophes dans les réactions anapérotyques. Ces réactions réapprovisionnent un réservoir en un de ses métabolites en équilibre dynamique au sein d'une séquence métabolique cyclique. Cependant, la fixation du CO_2 est difficile à appréhender et paraît très variable selon les milieux. Son importance a sans doute été surestimée par un biais méthodologique (Pourriot et Meybeck, 1995).

1.3.2.2. Utilisation du carbone organique

A chaque niveau trophique, le carbone est en partie stocké sous forme organique particulière dans la biomasse, excrété sous forme organique dissoute ou restitué au milieu par respiration.

D'un côté, une partie de la matière organique est dégradée. Par exemple, les lipides, constituants essentiels des membranes cellulaires, sont dégradés en acides gras et glycérol par des bactéries et des champignons. Le glycérol est rapidement utilisé comme source d'énergie et les acides gras dégradés pour former de l'acétate. Les protéines sont transformées en acides aminés qui sont rapidement utilisés pour les biosynthèses.

Selon les travaux de Winberg (1971) (in Garnier et Lavandier, 1995), 40 à 60 % de la matière organique consommée est assimilée, la moitié seulement étant transformée en constituants cellulaires. Le reste étant restitué au milieu sous forme de CO_2 via la respiration, ce qui représente 6 à 15 % de la matière organique produite par la photosynthèse.

D'un autre côté, une partie de la matière organique sédimente. Les invertébrés benthiques ingèrent et recyclent ces agrégats sur lesquels se développent les microorganismes, bactéries et champignons. En conséquence, les taux d'assimilation sont faibles.

1.4. La relation production primaire et biomasse bactérienne

Le passage de matières organiques du phytoplancton aux bactéries implique plusieurs processus : l'excrétion des organismes, le bris de cellules algales lors de leur consommation par les animaux (sloppy feeding) ou la lyse cellulaire. Ces processus libèrent de la matière organique dissoute qui, utilisée par les bactéries hétérotrophes, est ainsi en partie restituée au réseau trophique par le biais de la boucle microbienne (Azam et al, 1983). Des phénomènes d'agrégation permettent en outre de transformer la matière organique dissoute en matériel particulaire (Cho et Azam, 1988 in Garnier et Lavandier, 1995).

1.4.1. La production primaire

La production primaire d'un écosystème désigne l'ensemble de la matière organique synthétisée par les organismes autotrophes. Ces composés organiques sont une source de matière et d'énergie pour les organismes hétérotrophes qui s'alimentent directement ou indirectement à leurs dépens.

L'analyse du matériel végétal indique que le carbone représente une fraction plus ou moins constante de la biomasse. En conséquence, l'élaboration de biomasse nouvelle résultera en premier lieu du gain net en carbone par photosynthèse.

L'activité photosynthétique dépend de nombreux facteurs notamment de la température et des nutriments mais aussi de l'énergie lumineuse disponible et de la capacité des organismes à utiliser cette énergie (Gosselain et al., 1994).

Cette production nette correspond à la photosynthèse brute (PB) diminuée des pertes par respiration (R) et éventuellement par excrétion, une partie des molécules organiques pouvant être exsudée par les végétaux dans le milieu. La production nette représente donc le carbone disponible pour la croissance et pour la constitution de réserves intracellulaires. Il est alors possible de supposer qu'il existe une relation entre le taux de formation de biomasse nouvelle et le taux de photosynthèse (quantité de CO₂ fixé).

Dans un lac oligotrophe, la production primaire brute (PPB) tourne autour de 50 à 300 mg C.m⁻².j⁻¹. Pour un lac mésotrophe, elle peut varier entre 250 et 1000 mg C.m⁻².j⁻¹ et dans un lac eutrophe, elle dépasse 1000 mg C.m⁻².j⁻¹ (Wetzel, 1983).

1.4.2. La production et biomasse bactérienne

L'assimilation de matières organiques permet aux bactéries d'accroître leur biomasse grâce à la production bactérienne :

$$P = \mu * B$$

- P : Production bactérienne (µg C.l⁻¹.h⁻¹)
- µ : Taux de croissance (h⁻¹)
- B : Biomasse bactérienne (µg C.l⁻¹)

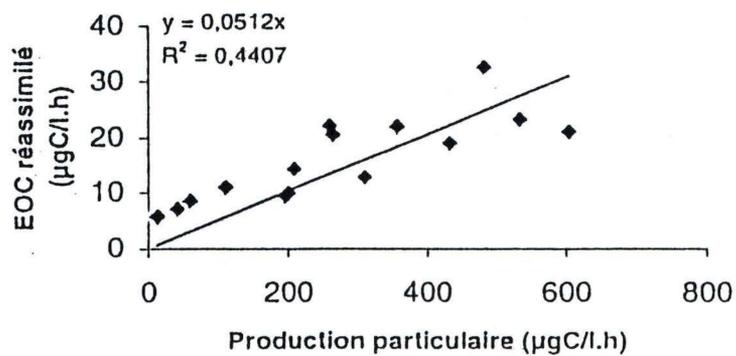


Figure 4 : Relation entre la réassimilation bactérienne (EOC = Carbone Organique Excrété) et la production primaire phytoplanctonique (Production particulaire) dans la Meuse (Tailfer) en 2000, exprimés en $\mu\text{g C.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$. (D'après François, 2000)

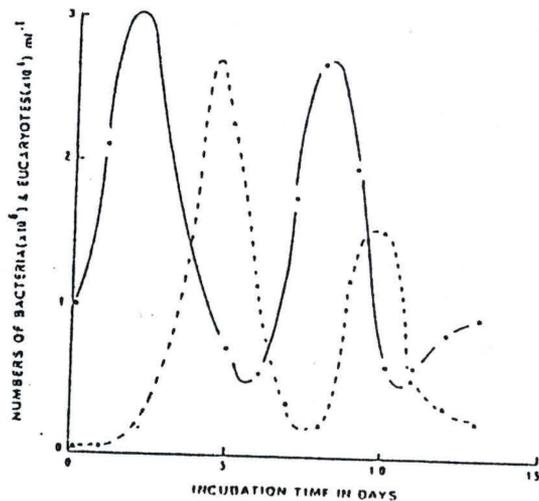


Figure 5 : Relation proie-prédateur entre les bactéries (—) et les petits eucaryotes de 3-10 μm (essentiellement des nanoflagellés hétérotrophes (----)). (D'après Azam et al., 1983)

Cette production peut être mesurée à partir du taux de synthèse de l'ADN bactérien (Fuhrman et Azam, 1980, 1982). La synthèse d'ADN est directement proportionnelle au taux de division cellulaire des bactéries. Une incubation, en présence d'un nucléoside radioactif, nous fournira une vitesse d'incorporation correspondant donc à une production bactérienne.

1.4.3. Couplage phytoplancton-bactéries

Azam et al. (1983) ont pu mettre en évidence une relation entre la biomasse bactérienne et la production primaire se traduisant par un couplage entre la production phytoplanctonique et la production bactérienne. Comme en milieu marin, l'étude des milieux lacustres nous révèle également un couplage entre la production primaire et la production bactérienne (Cole et al., 1988). Cette même relation a pu être établie pour des milieux d'eau douce (Servais, 1987; Servais et al., 2000) en milieu fluvial eutrophe (Figure 4).

Il existe une synchronisation nyctémérale du taux de croissance bactérien avec la production de matière organique dissoute. Certains chercheurs (Bratbak et Thingstad, 1985, Bjørnsen, 1988) soulignent le paradoxe de la stimulation des productions bactériennes par le phytoplancton alors qu'ils sont en compétition pour les nutriments. Il existe, en fait, un mécanisme de régulation des populations bactériennes qui dépend de leur consommation par des protozoaires, en particulier par des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) (Figure 5).

Dans les milieux pélagiques, où les apports allochtones de MO biodégradable sont faibles, le stock en matière organique est essentiellement d'origine phytoplanctonique. Ainsi, le développement printanier du phytoplancton est généralement suivi d'une activité bactérienne basée sur la production extracellulaire du phytoplancton dominée par des petites molécules d'hydrates de carbone. Au cours de la progression du cycle annuel, l'activité bactérienne est alors basée sur un stock plus diversifié de matières organiques, parfois complexes, résultant non seulement de l'activité photosynthétique et de la lyse des cellules algales mais également du broutage et des excréments du zooplancton (Pourriot et Meybeck, 1995).

La dynamique de la matière organique est plus complexe quand les apports allochtones en matière organique sont importants et variés. Dans un lac de barrage, soumis à une importante fréquentation touristique en période estivale (par exemple : Lac de l'Eau d'Heure, Belgique), la dégradation de la matière organique issue des effluents domestiques peut devenir importante comparée à celle issue du phytoplancton, perturbant ainsi le couplage classique phytoplancton-bactéries (Lavandier, 1990).

En milieu oligotrophe, l'excrétion phytoplanctonique est importante (Lancelot, 1983) et stimule la production bactérienne. Cette production diminue encore plus la disponibilité des nutriments pour le phytoplancton. Le broutage des bactéries par les protozoaires permet de récupérer les MO et les nutriments. La boucle microbienne confère aux milieux une grande capacité de reminéralisation (Stone, 1990).

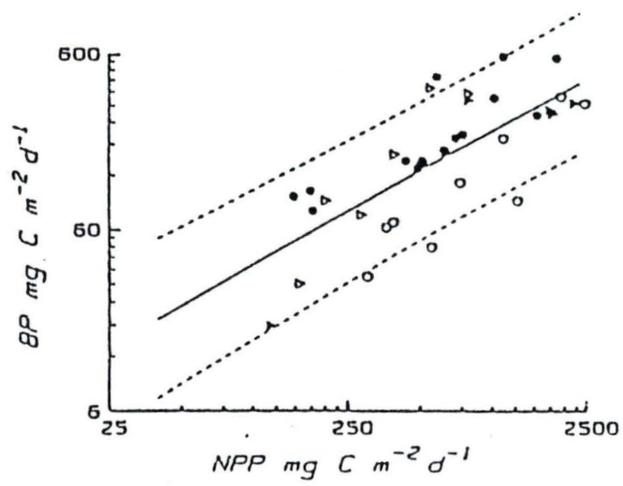


Figure 6 : Corrélation entre la production primaire (NPP) et la production bactérienne (PB).
(D'après Cole et al., 1988)

En milieu eutrophe, c'est plutôt la chaîne trophique classique qui est dominante. Avec de fortes biomasses phytoplanctoniques favorisant le macrozooplancton, la boucle microbienne n'intervient que pour optimiser la biosynthèse en récupérant les MOD provenant des rejets métaboliques des autres niveaux du réseau trophique (Pirlot, 2001).

Contrairement aux MO du bassin versant, les excréments du phytoplancton qui sont de faible poids moléculaire, sont rapidement utilisés par les bactéries hétérotrophes. Cependant, l'excrétion phytoplanctonique ne représente souvent qu'une faible part de la production primaire. Seule, elle ne peut supporter l'activité hétérotrophe des bactéries : elle ne peut donc pas expliquer complètement le couplage étroit entre productions primaire et bactérienne qui est généralement observé. D'autres MO sont utilisées, exogènes, et endogènes avec les cellules végétales mortes, les excréments animaux, les pelotes fécales et les cadavres de zooplancton et des poissons. Bien que de natures variées, les MO endogènes ont pour origine première la production primaire. Ces processus de dégradation de MO morte fournissent bien sûr une explication à la relation entre production primaire et production bactérienne (Figure 6) mais uniquement sur le long terme. A court terme (heures, jours), la production bactérienne en milieu pélagique doit être soutenue par un apport de MO dissoute, assimilable, provenant directement des producteurs primaires.

1.5. Les sources autochtones de matière organique dissoute et leur réassimilation bactérienne

La MO autochtone est essentiellement produite par l'excrétion du phytoplancton mais aussi par la mortalité naturelle et par la lyse du phytoplancton, spontanée ou résultante du broutage par le zooplancton. La lyse phytoplanctonique spontanée sera détaillée dans le chapitre suivant.

1.5.1. La mortalité naturelle

Lors de la mort cellulaire, il y a libération de matières organiques. Cette mort peut être naturelle, mais elle peut aussi être provoquée par des virus ou des champignons parasites. Lorsque les cellules vieillissent, leur membrane devient plus perméable, ce qui permet plus facilement le passage des molécules organiques vers l'extérieur de la cellule (Sell et Overbeck, 1992).

Les cellules algales peuvent être infectées par des virus. Ces virus sont pour la plupart considérés comme bactériophages (Bratbak et al., 1990) mais pour Brussaard et al. (1996), des virus infectant les cellules algales peuvent être massivement présents et infecter jusqu'à 50 % du phytoplancton. Les virus peuvent ainsi provoquer la lyse des cellules algales et rendre le carbone organique disponible pour les bactéries. Ce mode de libération du carbone est massif et ponctuel par rapport à l'excrétion qui est un processus plus lent mais constant.

Une libération de carbone peut également se produire suite au parasitisme des cellules algales par des Oomycètes et des Chytridiomycètes. Les infections ne sont pas limitées aux cellules affaiblies ou moribondes (Holfeld, 2000). Par ailleurs, on sait que le parasitisme par les champignons est influencé par de nombreux facteurs environnementaux tels que la température, la lumière, la limitation en nutriments (Van Donk, 1983).

1.5.2. Le sloppy feeding

Le grazing ou broutage représente la consommation de phytoplancton, que ce soit par le zooplancton ou le zoobenthos. Cette ingestion algale peut entraîner des pertes de matières organiques (sloppy feeding).

Jusqu'à 17% du carbone algal ingéré initialement est libéré lors du dommage causé aux algues pendant la nutrition par le zooplancton. Selon Lampert (1978), cette perte serait beaucoup plus faible : il estime que seulement plus ou moins 4% du carbone des algues ingérées serait relâché pendant l'ingestion.

1.5.3. L'excrétion phytoplanctonique

L'excrétion phytoplanctonique est un processus tout à fait normal des cellules en pleine santé (Sell et Overbeck, 1992). L'excrétion a été implicitement interprétée comme étant une libération active d'un excès d'énergie qui est accumulé quand la fixation du carbone excède l'incorporation dans du nouveau matériel cellulaire (Fogg, 1983).

Le taux d'excrétion, estimé stable dans un milieu déterminé, varie en fonction de l'espèce (Hellebust, 1965), de l'âge de la cellule (Sell et Overbeck, 1992), d'une limitation en nutriments (Lancelot, 1983) ou encore un trop important rayonnement lumineux entraînant une photorespiration (Pourriot & Meybeck, 1995).

L'excrétion du phytoplancton est rapidement utilisée par les bactéries qui sont, par ailleurs, capables d'assimiler des nutriments inorganiques plus efficacement que le phytoplancton (Azam et al., 1983). Si l'excrétion sert comme un surplus de carbone pendant une limitation en nutriments, cela pourrait mener à une situation paradoxale dans laquelle le phytoplancton stimulerait activement ses compétiteurs (Bjørnsen, 1988).

La plupart des populations de phytoplancton naturel en bonne santé excrètent 4 à 16 % de leur carbone pendant leur croissance exponentielle. Il existe une grande variabilité en composés carbonés excrétés suivant les espèces. Les algues exposées à une intensité lumineuse directe (100000 – 120000 lux) ont des taux d'excrétion très importants, résultant probablement de dommages causés aux cellules par photorespiration. L'acide glycolique est excrété en très faible quantité pour la plupart des algues. Il représente, néanmoins, 9 à 38 %

du carbone total excrété pour 4 des 22 espèces étudiées : *Olisthodiscus* sp., *Chaetoceros pelagicus*, *Chlorococcum* sp. et *Skeletonema costatum*. La moyenne de carbone excrété sous forme de protéines tourne autour de 0.2 à 5.9 %. Des quantités considérables d'acides aminés et de peptides ont aussi été détectés comme produits d'excrétion de la plupart des algues. Quelques espèces excrètent presque exclusivement une seule substance. Par exemple, *Chlorella* sp. excrète seulement de la proline, *Dunaliella tertiolecta* seulement du glycérol et *Olisthodiscus* sp. seulement du mannitol. Des quantités considérables de sucre, de glycérol et de mannitol sont excrétés par plusieurs Chlorophytes et Chrysophytes. Cependant, la quantité relative de polysaccharides excrétée reste faible pour la plupart des algues. (Hellebust, 1965 ; Sundh, 1992).

Il existe des différences entre le système marin et fluvial. Dans les lacs, la libération extracellulaire s'accroît de façon non linéaire avec la productivité, résultant en un très faible pourcentage de libération extracellulaire dans les systèmes eutrophes. Dans les mers côtières et les estuaires, cela s'accroît de façon linéaire avec la productivité (Baines et Pace, 1991).

Un exemple d'excrétion en milieu eutrophe peut être donné par la Meuse en amont de Namur où l'excrétion du phytoplancton représente une moyenne de 7 % de la production primaire. Septante-sept % de cette excrétion de carbone organique est récupéré par les bactéries. Les calculs montrent que dans un système fluvial, l'excrétion de carbone organique par les algues explique en moyenne 22 % de la demande en carbone des bactéries (Descy et al., 2002). Le couplage production bactérienne – production primaire observé dans ce milieu (Servais, 1987; Servais et al., 2000) ne peut donc être totalement expliqué par l'excrétion phytoplanctonique.

2. La lyse phytoplanctonique

2.1. Introduction

Les publications sur la lyse des cellules algales sont peu nombreuses (Reynolds et al., 1982 ; Van Boekel et al., 1992) mais elles montrent que la lyse cellulaire peut être importante à la fin d'un bloom. La lyse phytoplanctonique résulte en la libération du contenu cellulaire (Brussaard, 1995). Cette libération de composés par la lyse peut soit être directement utilisés par les herbivores, soit sédimenter ou encore peut alimenter le stock de carbone organique dissous dans la colonne d'eau (Agusti, 1998).

C'est l'existence de ce grand pool de carbone dans la colonne d'eau qui a mis en évidence le rôle du carbone organique dissous libéré par le phytoplancton, par l'intermédiaire de l'excrétion et de la lyse, comme voie majeure de transfert de carbone dans les chaînes alimentaires marines (Pomeroy, 1974 ; Cole et al., 1988 ; Agusti, 2000). Cela a permis la découverte d'un couplage important entre phytoplancton et micro-hétérotrophes. En effet, la grande quantité de MOD pourrait augmenter la production bactérienne et, par conséquent, le broutage des bactéries par les nanoflagellés hétérotrophes. Le broutage des nanoflagellés hétérotrophes par les ciliés et du microzooplancton par le mésozooplancton peut lier la chaîne microbienne à la chaîne alimentaire conventionnelle phytoplanctonique (Brussaard et al., 1995).

En 1992, Van Boekel étudie le déclin des blooms de *Phaeocystis*. D'une part, il observe que le bloom de *Phaeocystis* décline à cause d'une lyse cellulaire, non à cause d'une limitation en nutriments et que la sédimentation et le broutage sont relativement peu importants dans les facteurs de perte.

D'autre part, il remarque que la biomasse microbienne (bactéries et proto-zooplancton) restait peu élevée pendant ce bloom mais augmentait fortement lors du déclin du bloom.

Le fort accroissement de la biomasse de bactéries et de protozooplancton, sur une relativement courte période après le déclin du bloom de *Phaeocystis*, contraste brusquement avec le faible accroissement rencontré pendant le bloom. Ce changement soudain suggère que le réseau trophique microbien (bactéries, ciliés, nano-flagellés) soit limité par le carbone pendant le bloom de printemps. Un accroissement de la libération de carbone organique dissous par la lyse durant le déclin du bloom de *Phaeocystis* aurait facilité l'accroissement considérable de la biomasse dans la chaîne alimentaire microbienne.

Pour Reynolds et al. (1982), ni le grazing, ni la sédimentation ne peuvent expliquer la chute de la population de *Microcystis* dans des enceintes expérimentales. Ils estiment que la lyse des cellules algales pourrait l'expliquer.

Ce n'est qu'en 1992 que Van Boekel et al. étudient alors effectivement cette lyse phytoplanctonique et soulignent l'importance de ce facteur de perte dans la décroissance du bloom printanier dans les eaux de la mer du nord. Ils estiment important de comparer les pertes en carbone du phytoplancton à travers la lyse et la production primaire brute dans ces eaux.

Par la suite, deux équipes de chercheurs, Brussaard et al. (1995) et Agusti et al. (1998), ont tenté de mettre au point une technique qui permettrait de quantifier ces taux naturels de lyse phytoplanctonique en milieu marin.

Cette technique dérive d'une méthode utilisée pour des cellules animales par Rotman et Papermaster (1965). Elle est basée sur l'estimation de la libération d'estérases par la lyse du phytoplancton (Van Boekel et al., 1992 ; Brussaard et al., 1995).

La lyse des cellules de phytoplancton est désormais perçue comme étant un processus important de perte (Jassby and Goldman, 1974 ; Van Boekel et al., 1992 ; Brussaard et al., 1995) et elle doit être prise en compte comme facteur de perte dans les modèles d'écosystèmes pélagiques au même titre que le grazing, la sédimentation et le déplacement des masses d'eaux.

2.2. Facteurs responsables de la lyse cellulaire

La mortalité des populations phytoplanctoniques est souvent considérée être la cause de facteurs externes uniquement, tel que la sédimentation ou le grazing (Walsh, 1983).

Les processus physiologiques étant plus rarement étudiés, on a tendance à voir les algues eucaryotes unicellulaires comme immortelles.

Il y a cependant des rapports sur la lyse cellulaire qui serait le résultat de beaucoup de facteurs, incluant l'attaque parasitaire par des virus, des bactéries, et des champignons (Bratbak et al., 1993).

Berges et al. (1998) ont pris l'hypothèse que des conditions environnementales stressantes pouvaient également être un élément déclencheur de la lyse cellulaire. Les facteurs stressants cités sont : une limitation par les nutriments (en présence d'une radiation suffisante) et une limitation par la lumière (en présence de suffisamment de nutriments).

La mort physiologique des cellules algales conduit aussi à leur autolyse. Cette autolyse semble dépendre de leur état physiologique et varie suivant les espèces algales (Brussaard et al., 1995). Quelles que soient les causes, la lyse de phytoplancton libère des composants intracellulaires vers le milieu extérieur, augmentant ainsi la disponibilité de la matière organique dissoute pour les bactéries.

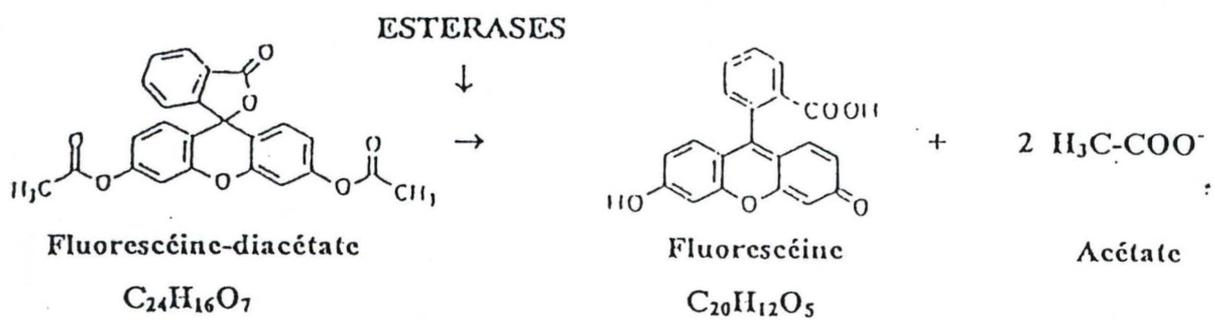


Figure 7 : Réaction d'hydrolyse de la Fluorescéine-diacétate (FDA) par les estérases.

2.3. Principe de la quantification de la lyse phytoplanctonique

Les estimations des taux de lyses cellulaires sont basées sur le calcul de la libération d'estérases intracellulaires vers le milieu, qui a lieu suite à la mort de cellules et aux dommages occasionnés aux membranes conduisant à la mort cellulaire. Les estérases sont des traceurs utiles de lyse cellulaire car ce sont des enzymes strictement cytoplasmiques (Dixon and Webb, 1979), qui n'apparaissent dans le milieu qu'après une rupture de la membrane cellulaire (Rotman and Papermaster, 1965 ; Van Boekel et al., 1992).

La méthode part de la supposition que seule la lyse du phytoplancton libère ces enzymes vers le milieu. Cette hypothèse a été testée en analysant la présence et la libération des estérases par des bactéries marines, des flagellés hétérotrophes et des ciliés hétérotrophes, tous isolés de Blanes Bay (Northwestern Mediterranean, Espagne) et par du phytoplancton en culture. L'activité estérasique dissoute, trouvée pendant les phases de croissance stationnaire et de déclin des microhétérotrophes (bactéries, flagellés et ciliés), était négligeable quand on compare avec ce qui a été trouvé pour les cultures phytoplanctoniques. Les différences dans leur volume cellulaire expliquent cette différence dans le contenu des estérases intracellulaires.

Agusti et al (1998) ont montré que la concentration d'estérases des autotrophes est bien plus grande (10 à 50 fois) que celle des hétérotrophes : ainsi, ils sont des traceurs qui les relient directement aux contenus des cellules phytoplanctoniques. Ils ont aussi montré que l'autolyse des bactéries et du nano-zooplancton était proportionnellement négligeable.

Dans les lots de cultures algales, un fort accroissement d'activité estérasique fut observé à la fin de la phase exponentielle de croissance (Van Boekel et al., 1992). Cet accroissement coïncide avec l'observation microscopique de la libération de cytoplasme par les cellules. Les expériences de laboratoire montrent aussi que le broutage du phytoplancton par un copépode calanoïde ou un dinoflagellé hétérotrophe ne stimule pas la libération d'activité estérasique. Ces études préliminaires montrent que l'activité estérasique est suffisamment adéquate pour la mesure de lyses cellulaires algales.

Cette méthode quantifie l'abondance d'enzymes de par son activité, à une température constante (25°C), en présence d'un excès en substrat. Les estérases dissoutes clivent les acétates de la fluorescéine-diacétate ou FDA, utilisé comme substrat (Van Boekel et al., 1992). Cette hydrolyse permet la libération d'une molécule fluorescente, la fluorescéine (Widholm, 1972). La fluorescéine s'accumule comme un produit de la réaction entre les estérases et le FDA et elle augmente avec l'accroissement de la concentration en FDA suivant la cinétique de Michaelis-Menten (Figure 7) (Rotman and Papermaster, 1965).

2.4. Mesure du taux de lyse cellulaire

Le taux de lyse cellulaire peut être estimé par calcul à partir de l'activité estérasique dissoute (AED) (Van Boekel et al., 1993 ; Brussaard et al., 1995 ; Agusti et al., 1998), et de l'activité estérasique interne moyenne (AEI) attendue de la biomasse algale.

L'AED est mesurée suivant la technique spectrofluorimétrique décrite ci-dessus par Van Boekel et al. (1992). L'AEI est mesurée en utilisant un rapport AEI/Chl a , dérivé des mesures sur les cultures d'algues.⁽¹⁾

D'après les recherches de Brussaard (1995), ce rapport AEI/Chl a fluctue considérablement suivant l'espèce et suivant la phase de croissance. Les cultures en phase stationnaire donnent des valeurs plus élevées que des cultures en phase de croissance exponentielle. Le rapport moyen en AEI/Chl a provenant d'une culture axénique était comparable avec le rapport moyen de culture non axénique, ce qui indique une influence non significative des bactéries.

La valeur moyenne de AEI/Chl a utilisée pour les calculs du taux de lyse par l'équipe de Van Boekel (1992), 12.6 nmol fluorescéine ($\mu\text{g Chl}a$)⁻¹ h⁻¹, est proche de la valeur trouvée pour les cultures de *Phaeocystis*, 15.0 nmol fluorescéine ($\mu\text{g Chl}a$)⁻¹ h⁻¹.

Agusti et al. (1998) utilisent une valeur moyenne d'AEI/Chl a de 331 +/- 39 nmol fluorescéine. ($\mu\text{g Chl}a$)⁻¹ h⁻¹. Cependant, des études complémentaires sur des algues marines montrent une grande variabilité de ce rapport d'un taxon à l'autre, d'où la nécessité de poursuivre ce type d'études par un "screening" d'espèces appartenant à différents groupes taxonomiques. Jusqu'à présent, des données concernant du phytoplancton d'eau douce sont absentes de la littérature.

2.5. Temps de demi-vie

Parce que les estérases sont des enzymes intracellulaires, leur libération vers le milieu implique quelques changements dans les conditions ambiantes (Wetzel, 1991). Les enzymes sont susceptibles de subir des dégradations et des altérations chimiques quand elles sont libérées de la cellule vers le milieu, menant à la réduction de leurs capacités fonctionnelles. L'activité enzymatique pourrait aussi être réduite par agrégation et sédimentation. Il est donc nécessaire de réaliser une mesure du taux de dégradation de l'enzyme dans les conditions naturelles.

⁽¹⁾ Rappelons que la biomasse d'algues microscopiques se mesure couramment par la concentration en chlorophylle a (en abrégé Chl a), exprimée en $\mu\text{g/L}$.

2.6. Conclusions de la littérature

D'après les études menées par Agusti et al. (1998-2000) en mer Méditerranée, les résultats obtenus confirment l'importance de la lyse cellulaire comme étant un facteur important de pertes pour le phytoplancton et son importance est démontrée être fortement saisonnière. Les taux moyens de lyse du phytoplancton trouvés en été sont élevés, avec une moyenne de $0,41 \pm 0,049 \text{ j}^{-1}$. Cependant, durant le reste de l'année, les taux de lyses restent bas, spécialement en période hivernale, avec une moyenne de $0,061 \pm 0,005 \text{ j}^{-1}$. Aussi, les taux de lyse étaient positivement corrélés avec la température de l'eau.

3. Objectif du mémoire

L'objectif de ce travail est d'évaluer la libération de carbone organique dissous via la lyse du phytoplancton et de déterminer son rôle dans l'assimilation par les bactéries.

En effet, Servais (1989) montre qu'il existe un couplage étroit entre la production bactérienne et la production phytoplanctonique. Le carbone organique dissous ainsi libéré par la lyse du phytoplancton pourrait, au côté de l'excrétion et du sloppy feeding, contribuer à la demande en carbone des bactéries hétérotrophes.

Ce travail a consisté dans un premier temps, à la mise au point de la méthode de mesure de la lyse algale, basée sur les travaux d'Agusti et al. (1998, 2000). Dans un second temps, nous avons réalisé un suivi, depuis avril jusque fin juin 2002, des productions phytoplanctoniques et bactérioplanktoniques dans la haute Meuse belge, à Tailfer, ainsi que sur les barrages de l'Eau d'Heure, plus particulièrement sur le lac de Falemprise.

Ainsi, nous avons pu donner une première évaluation de la contribution de la libération de carbone organique dissous via la lyse phytoplanctonique à la demande en carbone organique bactérienne.

Matériel et Méthodes

Matériel et Méthodes

COMPLEXE DES BARRAGES DE L'EAU D'HEURE

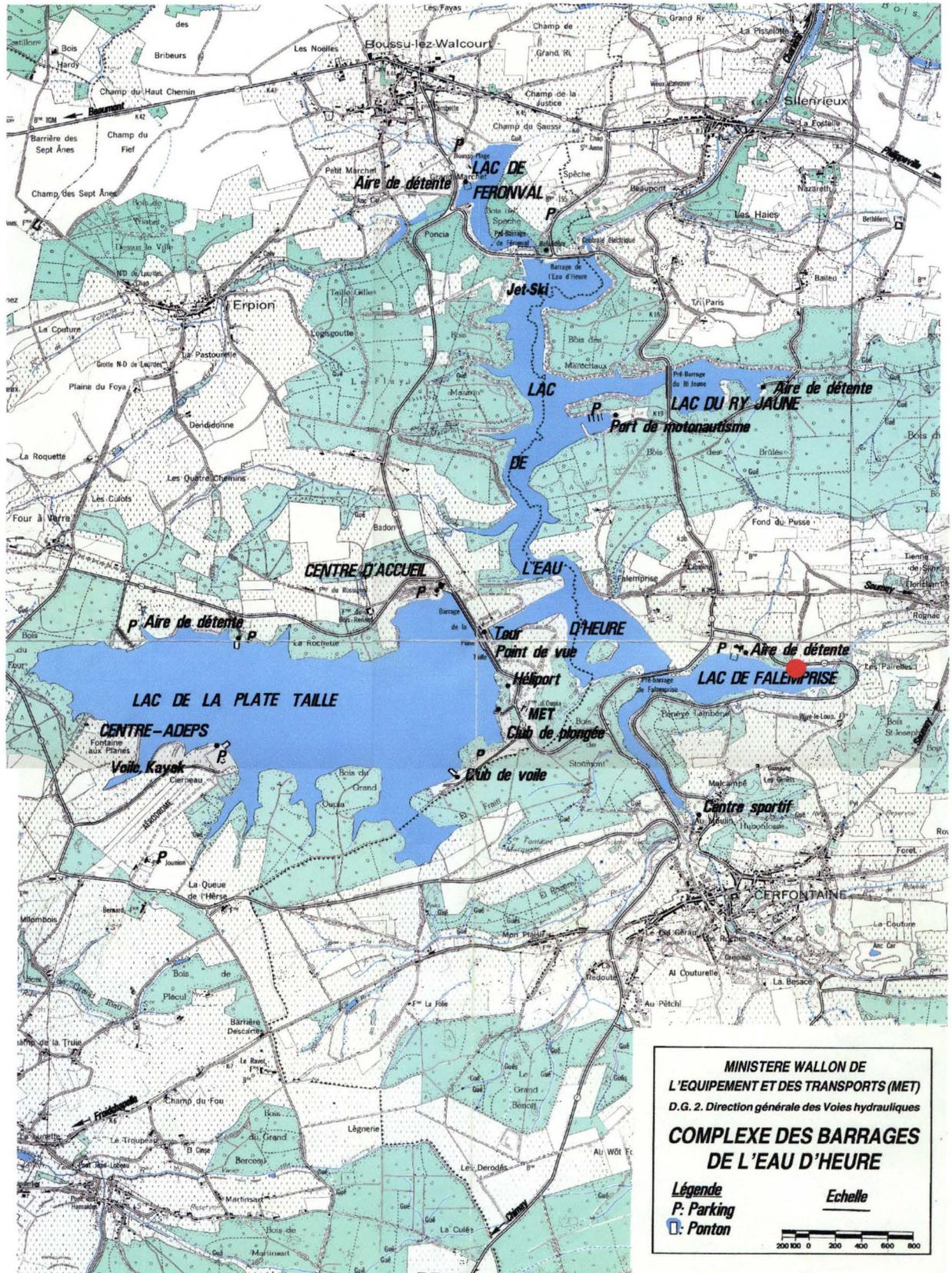


Figure 8 : Carte du complexe des barrages de l'Eau d'Heure, avec le point rouge représentant le point d'échantillonnage

II. Matériel et Méthodes

1. Milieux étudiés

▪ Lacs de l'Eau d'Heure

Les barrages de l'Eau d'Heure ont été conçus à la fin des années 1960. La construction d'un tel barrage fut motivée par le souci de maintenir en Sambre un débit minimum admissible. Or, en certaines saisons sèches, le débit de la Sambre tombe parfois en dessous d'un m³/s. Un débit aussi faible, en zone urbaine fortement industrialisée, engendre une hausse de la température de l'eau qui peut atteindre 30°C et provoque une telle altération de ses propriétés physico-chimiques que même son usage industriel en est compromis. Il s'imposait donc de renforcer le débit de l'étiage de la Sambre à Charleroi afin de combattre l'accroissement de la température de la rivière et de favoriser le pouvoir autoépurateur par apport en eau fraîche aussi important que possible. Les sites propres à emmagasiner les réserves d'eau de surface à cet effet devaient nécessairement être recherchés sur les affluents de la Sambre, en amont de Charleroi. Ils se situent entre Boussu-lez-Walcourt au Nord et Cerfontaine au sud, et ils sont composés de cinq lacs, deux barrages (la Plate-Taille et l'Eau d'Heure) et trois pré-barrages (Féronval, Ry-jaune et Falemprise) (Figure 8) (MET, 1997).

Outre ces fonctions, le complexe des barrages de l'Eau d'Heure, mis en service en 1980, représente un attrait touristique en Province de Hainaut. Des infrastructures touristiques importantes sont en projet, notamment la construction de 257 villas à proximité des lacs. Elles constituent une pression sur la qualité de l'eau et de l'environnement, ce qui nécessite des normes d'hygiène et de qualité des eaux pour les plans d'eau et pour les zones de baignade. Un projet de trois années a été mis en place, avec pour objectif de définir un plan directeur d'assainissement des lacs, en vue d'une revalorisation environnementale et touristique du site, dans le cadre d'une gestion intégrée. Le projet est construit sur un partenariat entre l'intercommunale INTERSUD et deux institutions universitaires, FUNDP (URBO et GIREA) et ULg, en relation avec les communes et les administrations wallonnes (MET, DGRNE).

Les études de production primaire, d'activité bactérienne et de lyse ont été réalisées durant la période du 10 avril au 27 juin 2002 uniquement sur le lac de Falemprise.

Le lac de Falemprise présente une capacité de 1 232 000 m³. Son bassin versant est de 4 164 ha. La seule rivière d'importance est l'Eau d'Heure qui, en aval de Cerfontaine, alimente le lac de l'Eau d'Heure via le lac de Falemprise. Le lac de la Plate-Taille quant à lui, est rempli artificiellement par pompage à partir du réservoir de l'eau d'Heure.

C'est le ruisseau de Soumoy qui alimente le lac de Falemprise. Il existe aussi d'autres ruisseaux, le ruisseau du Ry-Jaune, se jetant dans le lac du même nom et le ruisseau d'Erpion et de Boussu, alimentant le lac de Féronval.

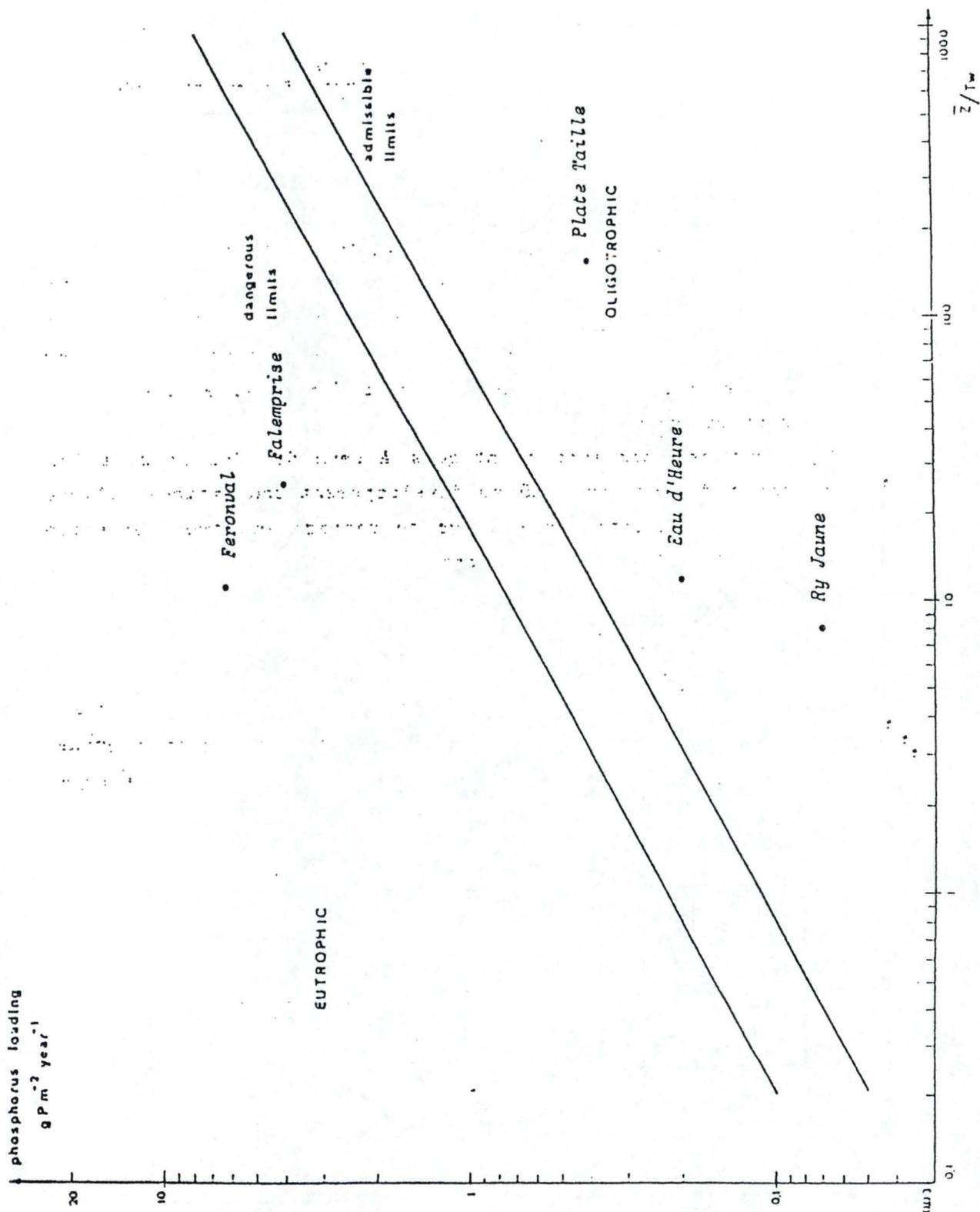


Figure 9 : Situation trophique générale des lacs de l'Eau d'Heure en 1981.
 Avec, \bar{Z}/T_w : la profondeur moyenne/le temps de rétention.
 D'après Dehavay, 1981.

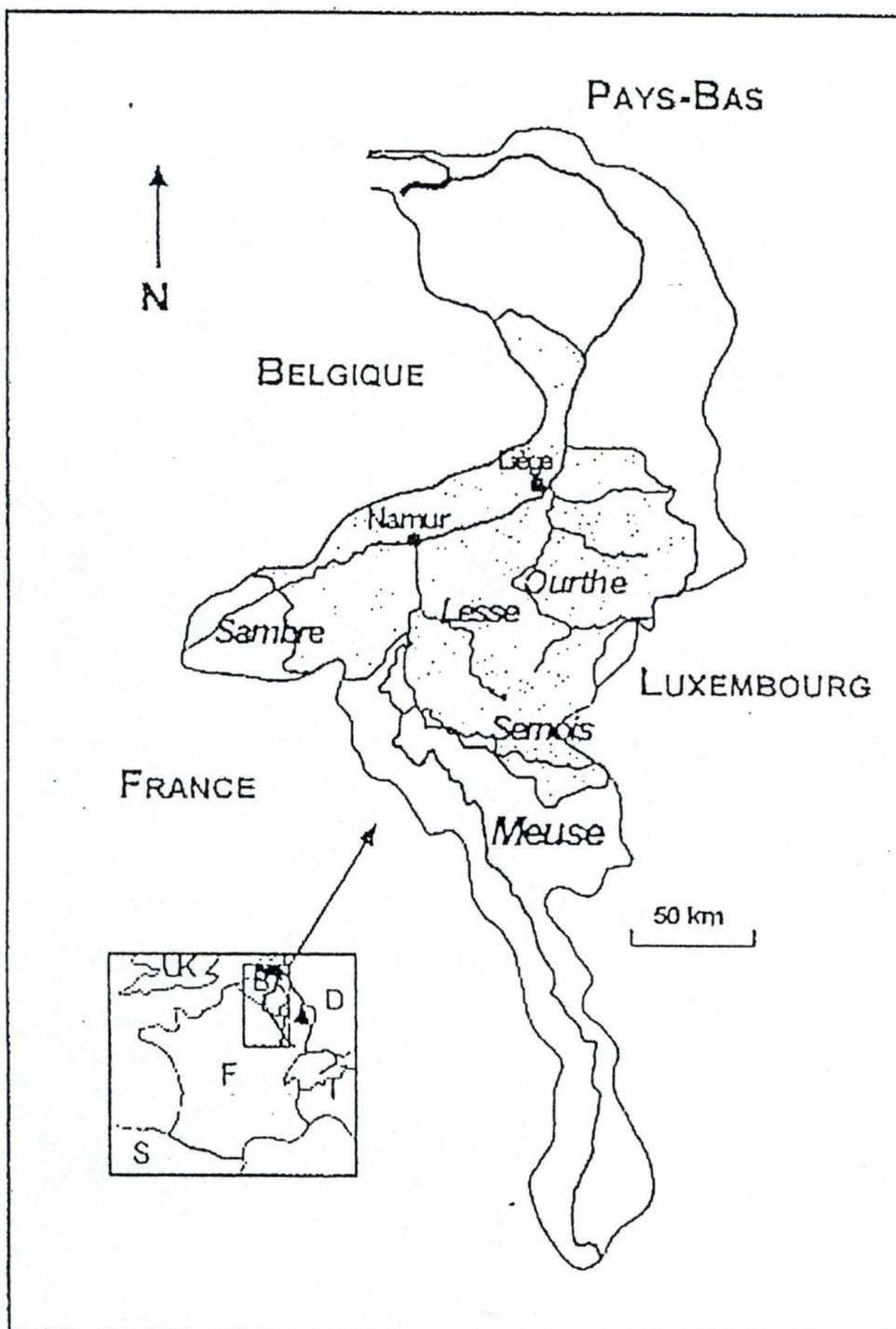


Figure 10 : Carte du bassin de Meuse. Les principaux affluents sont indiqués en italique.

Les eaux du lac de Falemprise sont qualifiées comme étant eutrophes d'origine récente (Figure 9). Le ruisseau de Soumoy est en effet pollué par des déversements d'eaux usées domestiques. Il en est de même d'ailleurs pour les ruisseaux d'Erpion et de Boussu. L'Eau d'Heure est quant à elle sensée être de meilleure qualité grâce à la présence de la station d'épuration située en aval de Cerfontaine.

▪ La Meuse belge

La Meuse prend sa source à Pouilly en Bassigny dans l'Est de la France. Elle s'écoule sur 885 km à travers la Belgique et les Pays-Bas. La Meuse rejoint le Rhin dans les Pays-Bas et elle forme avec lui un delta qui débouche dans la Mer du Nord (Figure 10).

Le fleuve draine un bassin versant d'environ 36 000 km² de superficie dont 40% se trouvent en Belgique ; le reste est réparti sur la France, les Pays-Bas, le Grand-Duché du Luxembourg et l'Allemagne. Tout au long de son parcours en Belgique, la Meuse est régulée par la navigation. Quarante-six barrages se situent sur l'ensemble du fleuve dont seize en Belgique.

Le site étudié, Tailfer, est situé à quelques kilomètres en amont de Namur et à 521 km de la source du fleuve. A cet endroit, la profondeur moyenne est de 3,95 m et la largeur moyenne est de 100 m. La Meuse possède des eaux alcalines, riches en nutriments.

Les débits de la Meuse, communiqués par la Compagnie Intercommunale Bruxelloise des Eaux (CIBE), fluctuent selon les précipitations tombées sur le bassin versant. En hiver, le débit oscille entre 800 et 1200 m³/s tandis qu'en été, les valeurs fluctuent entre 30 et 80 m³/s pouvant atteindre, en période de sécheresse exceptionnelle, des débits de 10 m³/s (Descy, 1992).

Les prélèvements d'eau, qui ont eu lieu du 24 avril au 27 juin 2002, ont été faits depuis le barrage, à proximité de la surface, au moyen d'une bouteille de type Van Dorn. Cet appareil est constitué d'un corps cylindrique transparent, d'une capacité de 3 litres, pourvu d'un mécanisme d'occlusion hermétique déclenchable à distance. L'eau brute est transportée rapidement au laboratoire où elle sera analysée.

2. Mesure des paramètres généraux

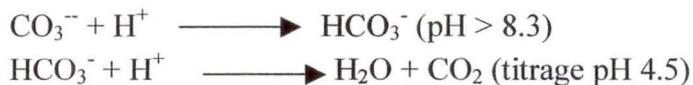
2.1. Température, pH et oxygène dissous

Le pH est mesuré sur le terrain à l'aide d'un pH-mètre WTW 323-A dont la précision atteint 0.01 unités pH ; l'oxygène dissous via un oxymètre YSI model 58. La température est lue est l'aide d'un de ces 2 appareils avec une précision de plus ou moins 0.2°C. Lors de chaque campagne, les calibrations ont été effectuées soit sur le terrain soit au laboratoire.

2.2. Alcalinité

L'alcalinité des eaux naturelles est due aux bicarbonates (HCO_3^-), aux carbonates (CO_3^{2-}) et aux ions hydroxydes (OH^-), ainsi qu'à tout autre ion se comportant comme accepteur de protons. La mesure de l'alcalinité totale, TAC, se fait par titrage avec un acide fort dilué.

Les réactions suivantes se produisent :



Elle est mesurée au laboratoire par titration de 50 ml d'eau filtrée sur GF/C par de l'acide chlorhydrique (HCL) 0.02 N. On mesure donc la somme des ions $[\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-} + \text{OH}^-]$ jusqu'à neutralisation complète, c'est à dire quand tout le carbone inorganique est sous forme de CO_2 . L'alcalinité totale correspond donc à la quantité d'acide ajoutée pour obtenir un $\text{pH} = 4.5$: elle s'exprime en méq/l ou en mg/l CaCO_3 .

2.3. Transparence de l'eau

Mesurée sur le terrain grâce à un dispositif avec deux quantamètres connectés à un data logger. Le premier, un senseur Li-Cor 190 SB, sert de référence en surface et fournit l'éclairement incident (I_0). Le second, un senseur Li-Cor SPQA 2021 mesure l'éclairement dans l'eau à différentes profondeurs (I_z). Le coefficient d'extinction (k) de la lumière est obtenu par la formule :

$$k = (\ln I_0' - \ln I_z) / z$$

- I_0' : éclairement sous la surface $I_0' = I_0 * 0.95$
- I_z : Intensité lumineuse à la profondeur z
- z : profondeur (m)

2.4. Analyse des nutriments

Les dosages ont été réalisés sur des échantillons d'eau du milieu étudié, filtrés sur GF/C de 25 mm. L'eau filtrée est conservée au congélateur jusqu'à l'analyse. Le principe général du dosage des nutriments consiste en la détermination de l'absorbance par réaction chimique avec la substance à doser de complexes colorés formés.

▪ Dosage de l'ammonium

L'ammoniaque est dosé par une méthode spectrophotométrique basée sur le développement d'un complexe coloré vert en présence d'ions hypochlorites, issus de l'hydrolyse alcaline du dichloroisocyanurate, de salicylate de sodium et de nitroprussiate de sodium. L'absorbance est lue à 665 nm dans des cellules de 1 cm (Standing Committee of Analysts, 1981).

▪ Dosage des nitrites et nitrates

Les nitrites sont dosés par la méthode à la sulfanilamide. La diazotation de la sulfanilamide en milieu acide en présence de la N-(1-naphtyl)éthylène diamine donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage colorimétrique à 520 nm dans des cellules de 1 cm.

L'acide sulfosalicylique forme avec les nitrates, en milieu anhydre, un complexe qui libère en milieu basique l'ion nitrosalicylate, de couleur jaune, qui permet un dosage colorimétrique des ions NO_3^- à une longueur d'onde de 420 nm dans des cellules de 1 cm.

▪ Dosage de la silice

Les silicates solubles réagissent en milieu acide avec le molybdate pour donner un composé silico-molybdique qui sera réduit en bleu de molybdène par l'acide ascorbique. L'interférence des phosphates est éliminée par addition d'acide oxalique. L'absorbance est lue à 815 nm dans des cellules de 1 cm.

▪ Dosage des orthophosphates

La concentration des orthophosphates dans l'eau est mesurée à partir d'eau filtrée par la formation, en présence d'un complexe de molybdate d'ammonium en milieu acide, d'un complexe phosphomolybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, développe une coloration bleue. Celle-ci permet un dosage colorimétrique par lecture à 885 nm dans des cellules de 1 cm.

3. Etude du phytoplancton

3.1. Biomasse phytoplanctonique

3.1.1. Dosage de la Chlorophylle *a* en spectrophotométrie (Péchar, 1987)

Un volume d'eau connu de l'échantillon est filtré sur filtre GF/C Whatman pour retenir les algues. Le filtre est mis dans un tube à essai avec 10 ml de solvant dans les proportions 5/1 (vol/vol) d'acétone 90% et de méthanol pur. L'extraction des pigments chlorophylliens se fait à chaud, c'est à dire pendant 2 minutes à 65°C. On refroidit pendant 15 minutes à température ambiante.

Ensuite 3 ml de l'extrait sont mis dans une cuvette en verre et l'absorbance est mesurée à 665 nm avant et après acidification à HCL (100 µl HCL 0.1N pour 3 ml). La lecture de l'absorbance (665 nm) après acidification permet de supprimer l'erreur due à la présence éventuelle de pigments chlorophylliens dégradés (Lorenzen, 1967).

La concentration en chlorophylle *a* est calculée sur base de l'équation :

$$\text{Chl } a \text{ (}\mu\text{g/l)} = (D_b - D_a) * 27 * (v / (V * L))$$

D_b : densité optique avant acidification

D_a : densité optique après acidification

v : volume du solvant (ml)

V : volume d'eau filtré (l)

L : longueur du trajet optique (cm)

3.1.2. Dosage des pigments en HPLC

Procédure d'extraction

L'extraction du matériel algal retenu sur les filtres est réalisée en plaçant le filtre dans une fiole à scintillation en verre de 20 ml, dans laquelle on additionne 10 ml d'acétone 90% de qualité HPLC. On procède ensuite à une sonication dans un bain à ultra-sons, dans de la glace fondante, pendant 15 minutes. Les fioles sont alors placées une nuit au frigo à 4°C, puis soniquées de nouveau, dans le même appareillage, pendant 15 minutes. L'extrait est ensuite filtré sur des cartouches filtrantes de 0,22 µm de porosité et placé dans une fiole en verre sombre de 3 ml. Ces fioles sont stockées au congélateur (-25°C) jusqu'à l'analyse.

Analyse en HPLC

Le système HPLC utilisé comprend un "Waters multisolvent delivery system", un injecteur automatique Waters et deux détecteurs: un détecteur à barrettes de diodes Waters 996 et un fluorimètre Waters 470 (réglé pour la détection optimale des chlorophylles et dérivés).

La séparation des pigments est obtenue par un gradient ternaire de 30 min, dérivé de Wright et al. (1991), avec une composition de la phase mobile identique à celle utilisée par ces auteurs.

La colonne est une Waters Nova-Pak C18 de 25 cm de long.

De façon standard, le volume injecté est de 50 μ l. La calibration est effectuée sur base de droites de calibration comportant 3 à 4 points, par injection de volumes croissants de solution-standards. Celles-ci sont des pigments (chlorophylles et caroténoïdes) purifiés fournis par la firme DHI, Danemark.

L'intégration est réalisée à l'aide du logiciel Millennium 2, sur des chromatogrammes extraits à 436 nm. Les pigments présents dans les échantillons sont identifiés à la fois par leur temps de rétention et par la correspondance de leur spectre d'absorption à 436 nm avec ceux de pigments connus stockés dans une librairie de spectres. Les concentrations en différents pigments sont exprimées en μ g L⁻¹, en tenant compte du volume d'eau filtrée initialement.

Quantification de la biomasse des différentes classes d'algues

Celle-ci est réalisée à l'aide du logiciel CHEMTAX, mis au point par Mackey et al. (1996), destinés à utiliser des pigments marqueurs des classes d'algues présentes dans le plancton pour quantifier leur biomasse.

Ce programme réalise une analyse factorielle qui minimise $[S - C_0 F_0]$

où :

- S : matrice des concentrations en pigments marqueurs (données d'entrée provenant de l'analyse en HPLC)
- F₀ : matrice initiale des rapports marqueurs : chlorophylle *a* (données d'entrée d'après la littérature = valeurs de ces rapports provenant d'analyse de culture pure d'algues et de données de terrain)
- C₀ : matrice d'abondance des classes d'algues en équivalents-chlorophylle *a* (ou en contribution des classes à la biomasse phytoplanctonique totale estimée par la chlorophylle *a*).

La méthode demande idéalement deux pigments en plus de la chlorophylle *a* pour chaque classe. Elle permet d'utiliser des marqueurs partagés par plusieurs classes d'algues (ex. la zéaxanthine chez les cyanobactéries et les Chlorophytes), en plus des marqueurs spécifiques (ex. la lutéine chez les Chlorophytes). Le programme est rédigé dans le langage MATLAB[®] et est installé sur PC.

- La matrice initiale suivante a été utilisée dans le cas des lacs de l'Eau d'Heure :

Tableau 1 : matrice initiale utilisée par CHEMTAX pour le calcul des biomasses des classes d'algues des lacs de l'Eau d'Heure.

	PERI	FUCO	NEO	VIOL	MYXO	DDX	ALLO	LUT	ZEA	CANT	ECHIN	BECAR	Chb	Cha
chlorophytes	0,0000	0,0000	0,0180	0,0240	0,0000	0,0000	0,0000	0,1170	0,0180	0,0000	0,0000	0,0000	0,1530	1,0000
chrysophytes	0,0000	0,2200	0,0000	0,0880	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
cryptophytes	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,2120	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0160	0,0000	1,0000
cyanobactéries_T1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1090	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
cyanobactéries_T2	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1380	0,0000	0,0000	0,0000	0,0360	0,0190	0,0850	0,0000	0,0000	1,0000
diatomées	0,0000	0,5630	0,0000	0,0000	0,0000	0,1290	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
dinoflagellés	0,6290	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,2500	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
euglénophytes	0,0000	0,0000	0,0100	0,0000	0,0000	0,2500	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3000	1,0000

PERI = péridinine

FUCO = fucoxanthine

NEO = néoxanthine

VIOL = violaxanthine

MYXO = myxoxanthophylle

DDX = diadinoxanthine + diatoxanthine

ALLO = alloxanthine

LUT = lutéine

ZEA = zéaxanthine

CANT = canthaxanthine

ECHIN = échinénone

BECAR = α -carotène

Chb = Chlorophylle *b*

Cha = Chlorophylle *a*

- La matrice initiale suivante a été utilisée dans le cas de la Meuse :

Tableau 2 : matrice initiale utilisée par CHEMTAX pour le calcul des biomasses des classes d'algues de la Meuse.

	PERI	FUCO	NEO	VIOL	DDX	ALLO	LUT	ZEA	ECHIN	BECAR	Chb	Cha
chlorophytes	0,0000	0,0000	0,0180	0,0240	0,0000	0,0000	0,1490	0,0220	0,0000	0,0000	0,1810	1,0000
chrysophytes	0,0000	0,2200	0,0000	0,0880	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
cryptophytes	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,2810	0,0000	0,0000	0,0000	0,0190	0,0000	1,0000
cyanobactéries_T1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1830	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
cyanobactéries_T2	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0340	0,1000	0,0000	0,0000	1,0000
diatomées	0,0000	0,6060	0,0000	0,0000	0,1550	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
dinoflagellés	0,6290	0,0000	0,0000	0,0000	0,2500	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
euglénophytes	0,0000	0,0000	0,0100	0,0000	0,2500	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3000	1,0000

PERI = péridinine

FUCO = fucoxanthine

NEO = néoxanthine

VIOL = violaxanthine

DDX = diadinoxanthine + diatoxanthine

ALLO = alloxanthine

LUT = lutéine

ZEA = zéaxanthine

ECHIN = échinénone

BECAR = α -carotène

Chb = Chlorophylle *b*

Cha = Chlorophylle *a*

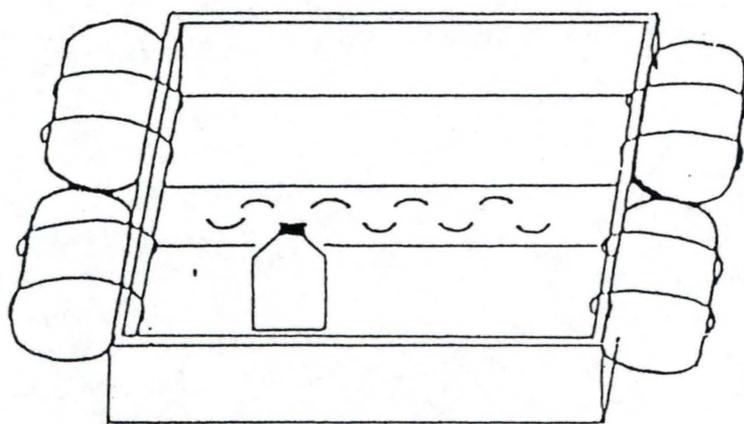


Figure 11 : Schéma du système d'incubation immergé

Ces matrices montrent les classes d'algues prises en compte (en fonction de la composition taxonomique des échantillons) et la répartition des pigments dans ces classes. Deux types de cyanobactéries sont prises en compte : un type 1 correspondant à la composition en caroténoïdes de *Synechococcus*, et un type 2, comportant l'échinénone, fréquemment présente chez des cyanobactéries filamenteuses.

3.1.3. Dosage du carbone

La mesure du carbone cellulaire, qui correspond à la quantité de matière organique, est une mesure idéale de la biomasse (= quantité de matière vivante). La mesure directe du carbone sur des cultures pures et axéniques ne pose pas de problèmes : on pourra par exemple, connaissant la concentration en cellules, déterminer par calcul la biomasse en carbone correspondante, sur base d'une calibration préalable.

La méthode de mesure est basée sur l'oxydation complète et instantanée d'échantillon sec par une "combustion flash", laquelle convertit toutes les substances organiques et inorganiques en produits de combustion. Ces produits sont des gaz qui passent à travers un réducteur de température et qui sont emportés dans la colonne de chromatographie par un gaz porteur (hélium). Les gaz sont séparés dans la colonne et décelés par le détecteur de conductivité thermique, lequel donne et envoie un signal proportionnel à la concentration des composants individuels du mélange.

3.2. La production primaire

La production primaire de Falemprise est mesurée sur le terrain, dans un système d'incubation immergé juste sous la surface à des éclairiments relatifs : 7, 15, 23, 38, 41, 52, 61 et 83 % de la lumière solaire in situ (Figure 11). Tandis que la production primaire de la Meuse est mesurée en laboratoire dans un système d'incubation avec des éclairiments relatifs de 14, 25, 38, 50, 63, 75, 88 et 100 %.

Une certaine quantité de bicarbonate marqué ($\text{NaH}_{14}\text{CO}_3$) est ajouté dans 18 bouteilles contenant chacune 100 ml d'eau. Pour chaque gamme d'éclairiment, nous trouvons 2 bouteilles, ce qui nous permet d'avoir des duplicats.

L'incorporation de ^{14}C à l'obscurité, due à la fixation hétérotrophe de carbone inorganique, est évaluée par incubation de deux bouteilles sombres et soustraite des résultats de chaque bouteille.

Il est nécessaire de laisser incuber les algues entre 30 minutes et 2 heures en fonction des conditions de luminosité, ceci pour qu'elles puissent assimiler le carbone radioactif. L'incubation est arrêtée par addition de 1 ml de formol 2%.

Dans les 24 h, chaque bouteille est filtrée sur filtres Whatman GF/C. On rince chaque filtre à HCL 0.1 N pour acidifier et enlever toute trace de carbone inorganique radioactif non assimilé. Les filtres sont alors placés dans des fioles à scintillation auxquelles on ajoute 10 ml de liquide scintillant Lumasafe® plus.

Pour mesurer la radioactivité introduite, 3 témoins sont également mesurés : on prélève 200 µl d'H₂O marquée provenant de trois des 18 bouteilles que l'on place dans une fiole à scintillation en présence de 200 µl de phényléthylamine et de liquide scintillant.

La radioactivité de chaque filtre ainsi que des témoins est mesurée par comptage au compteur à scintillation Beckmann LS 6000 SC.

On estime que le carbone marqué est assimilé par les algues au même taux que le carbone non marqué :

$$^{12}\text{C}_{\text{assimilé}} = (^{14}\text{C}_{\text{assimilé}} / ^{14}\text{C}_{\text{total}}) * ^{12}\text{C}_{\text{total}}$$

Il suffit donc de déterminer la radioactivité des algues après incubation (¹⁴C_{assimilé}), l'activité de l'échantillon (¹⁴C_{total}) et le carbone inorganique total (mesure de l'alcalinité et du carbone inorganique assimilable).

$$\text{C}_{\text{assimilé}} (\text{mg C.l}^{-1}.\text{h}^{-1}) = (x-y) / (x_0 * v) * (^{12}\text{C}_{\text{inorganique tot.}}) * Z * 1/t$$

- x : activité d'un filtre correspondant à l'échantillon (dpm)
- y : activité de la moyenne des filtres correspondant aux flacons sombres (dpm)
- x₀ : activité initiale dans les témoins (dpm)
- v : volume de l'échantillon filtré (ml)
- Z : 1.06 (facteur de discrimination isotopique)
- t : temps d'incubation (h)

Une fois l'assimilation du carbone connue, il est possible de calculer la production primaire journalière qui se base sur la relation photosynthèse-lumière. Les courbes sont ajustées pour chaque journée par le logiciel STATISTICA et selon l'équation de Vollenweider (1965), forme simplifiée qui tient compte d'une éventuelle photo-inhibition (Descy et al., 1987) :

$$P_{(z,t)} = 2 \cdot P_{\text{max}} \cdot (I_{(z,t)}/2 \cdot I_k) / [1 + (I_{(z,t)}/2 \cdot I_k)^2]$$

P_(z,t) : le taux de photosynthèse à la profondeur z et au temps t (mg C.(mg Chl a)⁻¹.h⁻¹)

P_{max} : le taux de photosynthèse à saturation (mg C.(mg Chl a)⁻¹.h⁻¹)

I_(z,t) : l'intensité lumineuse à la profondeur z et au temps t (µE.m⁻².s⁻¹)

I_k : la constante de saturation ou intensité lumineuse au seuil de la saturation (µE.m⁻².s⁻¹)

On aura donc une courbe caractérisée par P_{\max} (activité photosynthétique à saturation par la lumière) et I_k (intensité de lumière au seuil de la saturation).

La production journalière brute (PBJ, exprimée en $g\ C.m^{-2}.j^{-1}$) sur la colonne d'eau a été estimée à partir des variations journalières d'éclairement comme décrit dans Descy et al.(1987).

$$PBJ = \int_0^d \int_r^s 2 P_{\max} \frac{I_{(z,t)} / 2 I_k}{1 + [I_{(z,t)} / 2 I_k]^2} dt dz$$

d : la profondeur de la colonne d'eau
r et s : les heures de lever et de coucher du soleil

Les valeurs de l'éclairement sur l'ensemble du spectre lumineux pour chaque demi-heure nous ont été communiquées par l'Institut Royal de Météorologie (IRM).

La production nette a été estimée par différence entre la production brute et la respiration algale. Celle-ci a été déterminée à partir de P_{\max} selon la relation suivante (Descy et al., 1994) :

$$r = (0.046 \times P_{\max}) + 0.073 \quad (\text{mgC.mgChla}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$$

La respiration journalière sur la colonne d'eau (R) a été obtenue en multipliant r par la concentration en Chla, par la profondeur moyenne du secteur considéré et par 24h. Le taux de croissance algale (μ), exprimée en j^{-1} , a été calculé selon la relation exponentielle suivante :

$$\mu = \ln (1 + PN / B)$$

PN : la production algale nette ($g\ C.m^{-2}.j^{-1}$)

B : la biomasse algale ($g\ C.m^{-2}$), calculée à partir de la Chla et de la profondeur moyenne

4. Mesure du taux de lyse cellulaire

4.1. Principe de la méthode

La méthode fluorimétrique d'estimation du taux de lyse (Van Boekel et al., 1992) est basée sur la présence d'activité estérasique dans la fraction dissoute (AED) de l'échantillon d'eau. Elle permet de quantifier l'abondance des enzymes de par leur activité à une température optimale (25°C) en présence d'un excès en substrat fluorogénique artificiel, le fluorescéine-diacétate (FDA). Les estérases clivent le FDA, ce qui permet la libération de la molécule fluorescente, la fluorescéine. L'accumulation de fluorescéine dans l'échantillon s'accroît avec l'augmentation de la concentration en FDA selon une cinétique enzymatique de Michaelis-Menten (Rotman & Papermaster, 1965).

En plus de la mesure de l'activité estérasique dissoute, le calcul du taux de lyse nécessite la mesure de l'activité estérasique interne (AEI). L'AEI est calculé à partir de la mesure de la Chl α en utilisant un rapport AEI/Chl α dérivant de cultures phytoplanctoniques.

4.2. Mesure de l'activité estérasique dissoute (AED)

4.2.1. Mode opératoire

A 3 ml d'échantillon d'eau de terrain filtré sur des filtres 2 μ m et des filtres Acrodisc® 0.2 μ m, on ajoute :

- 30 μ l de tampon Hepes 0.8 M (pH 8),
- 30 μ l d'acide éthyldiaminetétraacétique sodique (Na₂EDTA) 20 mM,
- 30 μ l de FDA 2 mM préparé dans de l'acétone 100%,

Le tout est mélangé au vortex. Ceci est réalisé en triplicats dans des tubes en verre et placé à l'obscurité à 25°C pendant 1 heure, le temps que l'hydrolyse ait lieu.

Après l'incubation des échantillons, l'émission de fluorescence est mesurée immédiatement par le fluorimètre (LS-5B, Perkin-Elmer) à une longueur d'onde d'excitation de 451 nm et à une longueur d'onde d'émission de 510 nm.

Une recherche de ces longueurs d'ondes maximales a été au préalable réalisée. Elles correspondent aux longueurs d'onde trouvée par Agusti et al. (1998).

Pour calculer le taux de lyse phytoplanctonique, il faut connaître le temps de demi-vie ($T_{0.5}$) des estérases dans le milieu. C'est pourquoi une mesure de l'AED est réalisée toutes les heures avec un minimum de 4 heures pour obtenir une courbe exponentielle décroissante.

Le fluorimètre donne la quantité de fluorescence dans l'échantillon mais à quelle quantité de fluorescéine cela correspond-t-il ? Pour le savoir, nous avons réalisé une droite de calibration.

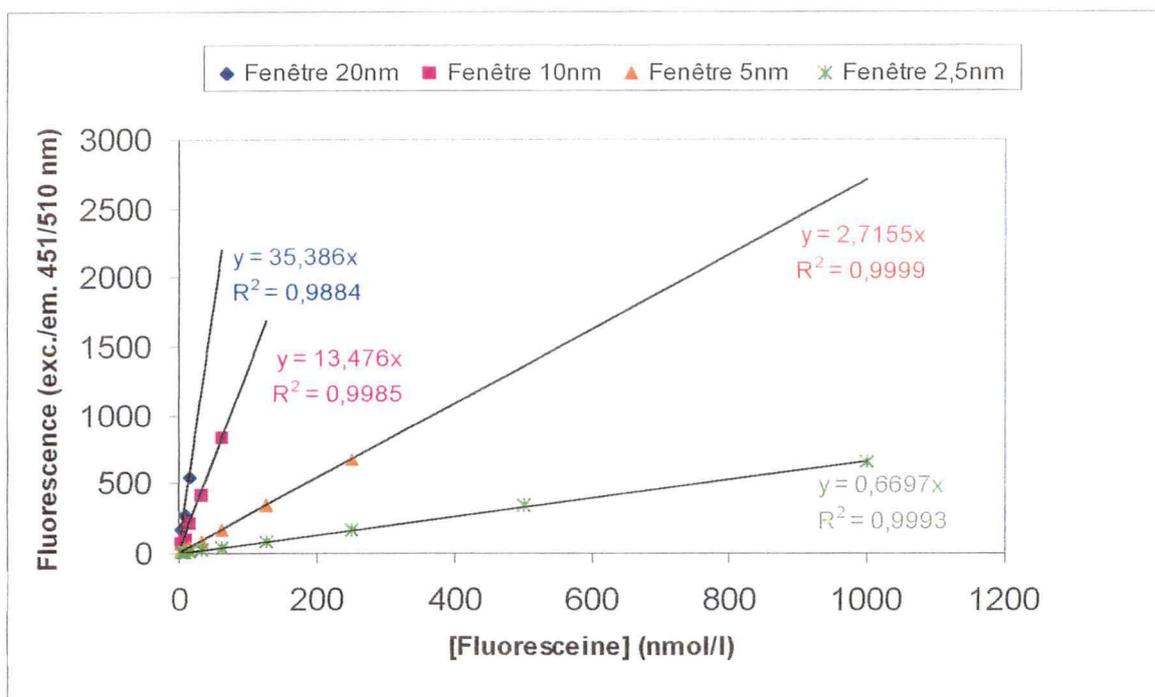


Figure 12 : Droites de calibration de la fluorescéine réalisées à différentes fenêtrés avec du tampon HEPES-Na₂EDTA (0.8 mM, 20 mM) au pH 8

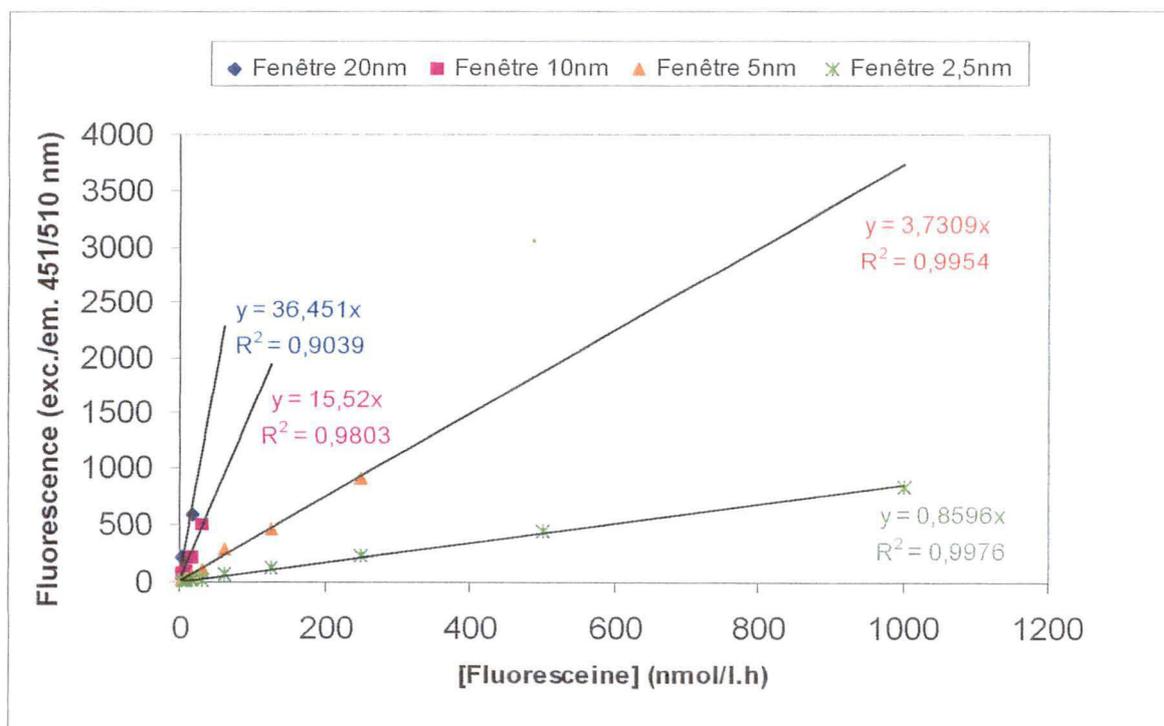


Figure 13 : Droites de calibration de la fluorescéine réalisées à différentes fenêtrés avec du tampon Tris-Na₂EDTA (1mM, 100 mM) au pH 8

4.2.2. Droite de calibration

La production de fluorescéine ($\text{nmol fluorescéine.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$) est calculée en utilisant une courbe de calibration. Elle est obtenue en mesurant la fluorescence dans des solutions de fluorescéine ($\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{O}_5\text{Na}_2$) à des concentrations connues ($3.91 - 1000 \text{ nmol fluorescéine.l}^{-1}$).

Deux ensembles de droite de calibration ont été utilisés suivant le tampon utilisé, soit le tampon Hepes- Na_2EDTA (0.8 mM, 20 mM) pour la détermination de l'AED, soit le tampon Tris- Na_2EDTA (1mM, 20 mM) pour la détermination de l'AEI. Les deux types de tampon sont ajustés à pH 8. L'eau ultra-pure déminéralisée, utilisée pour la dilution, est filtrée sur Acrodisc[®] de porosité 0.2 μm .

La mesure de fluorescence pour chacune des concentrations se réalise pour chaque fenêtre d'émission (2.5, 5, 10 et 20) afin de maintenir la lecture de la fluorescence à portée du fluorimètre (Figure 12 et 13).

4.3. Mesure de l'activité estérasiqne interne (AEI)

4.3.1. Introduction

La mesure de l'activité estérasiqne interne est réalisée sur des cultures d'algues en laboratoire. Nous avons utilisé 5 grands groupes d'algues qui sont considérés comme étant les plus représentatifs des types d'algues présents dans le milieu naturel :

1. Chlorophycées : *Kirchneriella subcapitata*
2. Cyanophycées : *Microcystis aeruginosa*
3. Chrysophycées : *Mallomonas asmundae*
4. Cryptophycées : *Cryptomonas ozolini*
5. Diatomophycées : *Cyclotella meneghiniana*

4.3.2. Cultures d'algues

Le milieu de culture est constitué de macro éléments, de micro éléments et de vitamines (d'après Bold). Ce mélange est porté au volume avec de l'eau milli-Q et le tout est stérilisé par micro-filtration (Stérivex-GV 0.22 μm). La culture des algues se fait dans 500 ml de milieu de culture, contenu dans des grandes bouteilles de 1 litre. Cette bouteille est fermée par un bouchon avec 2 tubes en caoutchouc :

- un long tube d'apport d'air comprimé sur lequel est fixé un filtre de 0.2 μm de porosité (Gelman, ACRO 50)
- un tube court pour la sortie des gaz

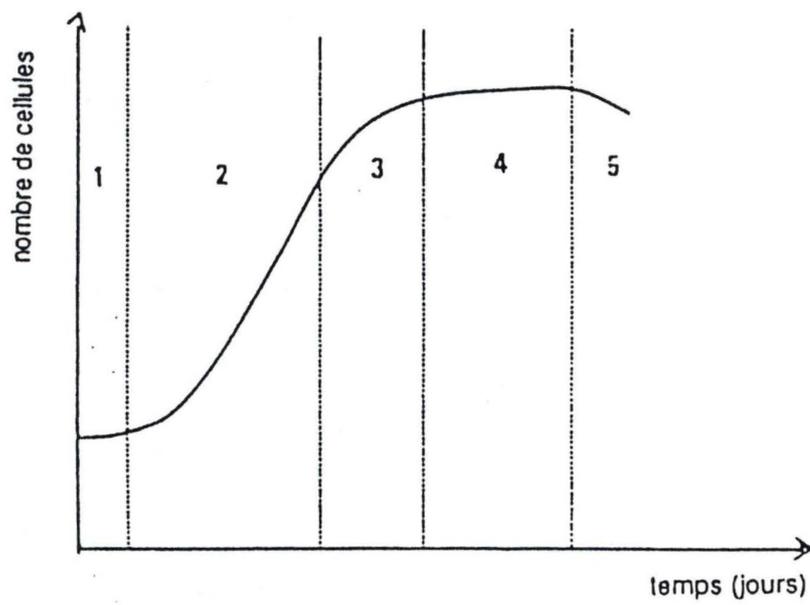


Figure 14 : Courbe logistique de croissance d'une population cellulaire

Des pinces de Mohr sont utilisées pour fermer les tubes après stérilisation des bouteilles. Les cultures d'algues sont mises à incuber dans une pièce où la température est de 20°C (+/- 1°C), avec un bullage d'air comprimé pour prévenir un appauvrissement du milieu en dioxyde de carbone. Des tubes fluorescents de type industriel permettent d'éclairer les algues. L'intensité lumineuse ainsi fournie est de 40 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ avec une photopériode de 16L : 8D.

Le taux de croissance algale, noté μ , se calcule à partir de la formule suivante :

$$\mu = (\ln N_{t_2} - \ln N_{t_1}) / (t_2 - t_1)$$

N : nombre de cellules

$t_2 - t_1$: intervalle de temps pendant la phase de croissance exponentielle (j^{-1})

La figure 14 montre la courbe de croissance logistique d'une population :

1. Phase de latence , suivant le repiquage de la culture dans un nouveau milieu
2. Phase de croissance exponentielle, où évolution de N est décrit par :

$$N_{t_2} = N_{t_1} \exp \mu * (t_2 - t_1)$$

3. Phase de saturation
4. Phase stationnaire
5. Phase de sénescence

La diminution du taux de croissance, apparaissant en phase 3, peut avoir plusieurs causes : soit l'épuisement du milieu en nutriments essentiels, c'est à dire d'une carence nutritionnelle des cellules soit l'auto-ombrage, c'est à dire l'insuffisance de lumière entraînée par la densité de culture.

La phase 4, où les cellules ne se divisent plus, est suivie par une phase de mortalité croissante, due à l'altération et au déséquilibre du métabolisme des cellules.

L'AEI propre aux cellules phytoplanctoniques est déterminée dans les cellules en phase de croissance exponentielle. Par conséquent, pour conserver une culture en "bonne santé", il faut la repiquer fréquemment pour maintenir les cellules en conditions de croissance exponentielle, ce qui fut réalisé une fois par semaine.

La mesure en parallèle de la chlorophylle *a* permet le calcul des contenus enzymatiques de la biomasse algale exprimés en AEI/Chl*a*.

Une autre technique rapide pour suivre la culture est de mesurer sa densité optique à une longueur d'onde déterminée (750 nm), la densité optique évoluant de façon proportionnelle à la concentration en cellules algales.

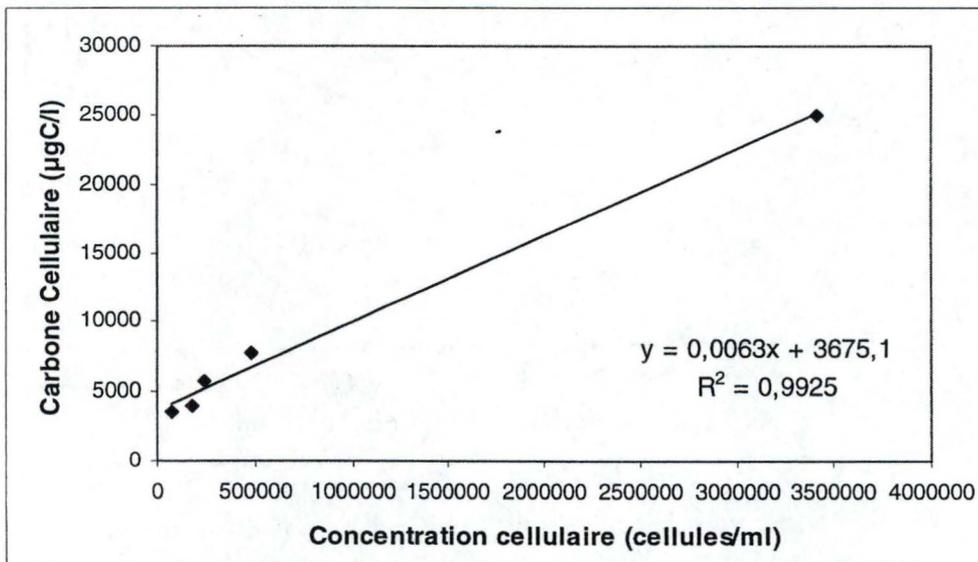
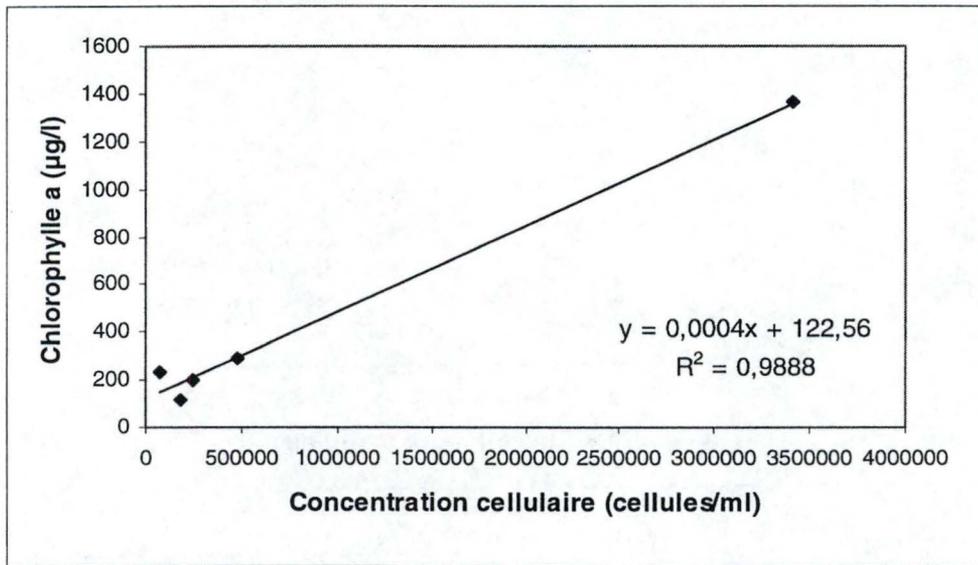
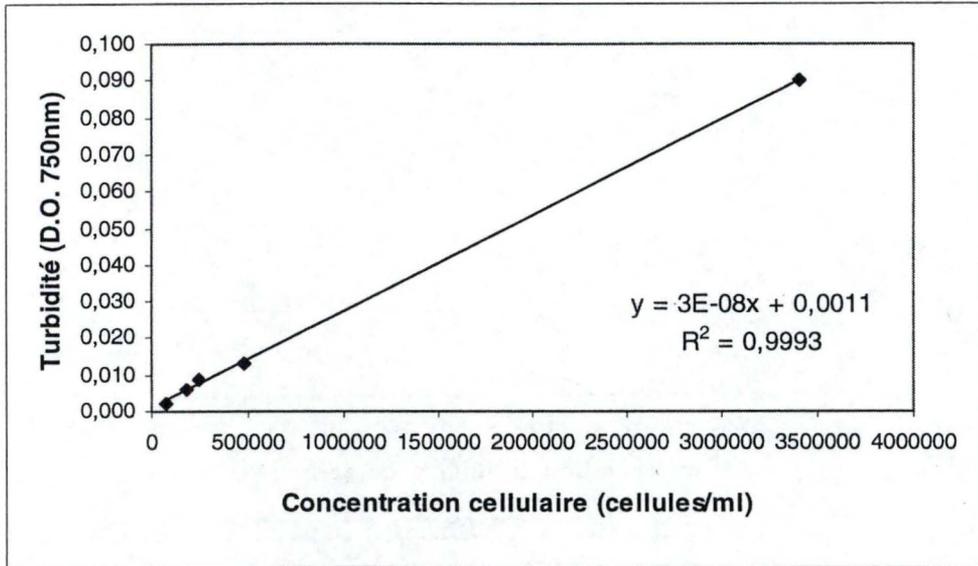


Figure 15 : Droites de calibration pour *Kirchneriella subcapitata*

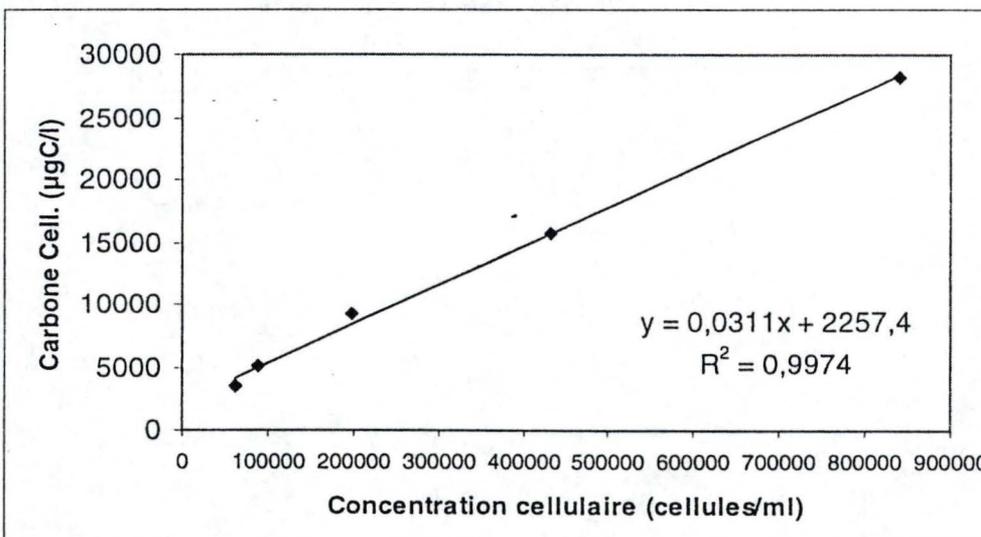
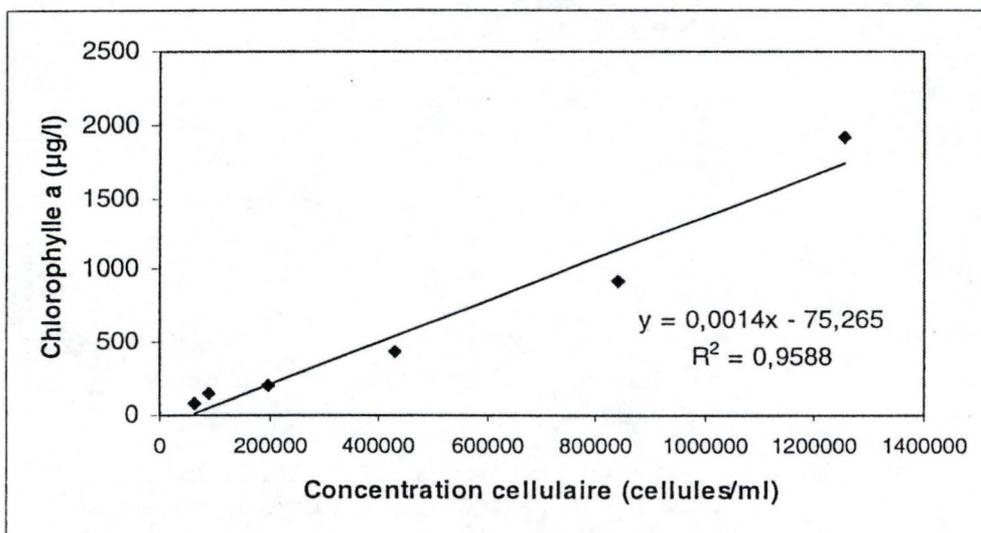
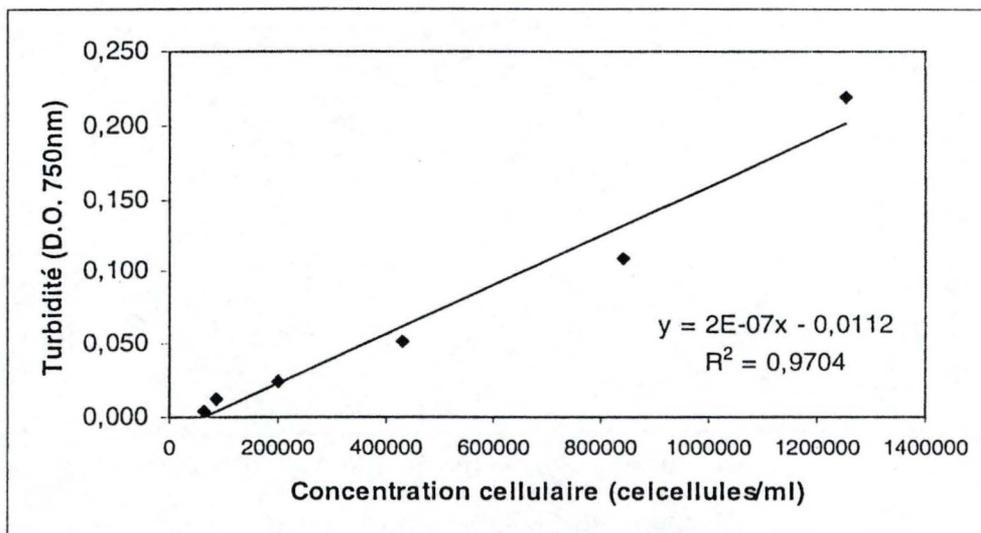


Figure 16 : Droites de calibration pour *Cyclotella meneghiniana*

Une calibration préalable permet de relier la densité optique à la concentration en cellules. Par manque de temps et par le fait que les autres cultures nécessitent un temps de développement assez long, cette procédure ne fut réalisée que pour deux des cinq cultures : *Kirchneriella subcapitata* et *Cyclotella meneghiniana* (Figure 15 et 16).

4.3.3. Mesure AEI

Deux méthodes différentes sont utilisées pour extraire de façon efficace les estérases : la méthode de sonication (lyse mécanique) et la méthode du lysozyme (lyse enzymatique).

▪ Méthode de sonication

Un volume connu de culture d'algues est filtré sur filtre de porosité 2 μm . Le filtre est broyé dans un potter de 30 ml avec un volume connu de tampon TRIS-EDTA (1mM-20 mM) à pH 8 filtré sur du 0.2 μm .

Ensuite, les estérases intracellulaires sont mises en solution par lyse mécanique des cellules. Il s'agit d'une sonde émettant des ultra-sons que l'on plonge de 2 à 3 mm dans l'échantillon. La recherche du temps de sonication permettant de lyser toutes les cellules a été réalisée sur les différentes cultures. Pour éviter une destruction thermique des estérases, la sonication se déroule dans un bain de glace.

Après la sonication, l'échantillon est centrifugé à 4500 RPM pendant 5 minutes à 4°C et filtré sur un filtre de porosité 0.2 μm .

▪ Méthode du lysozyme

Un volume connu de culture d'algues est filtré sur filtre de porosité 2 μm . Le filtre est broyé dans un potter de 30 ml avec un volume connu de tampon TRIS-EDTA (1mM-20mM) à pH 8 filtré sur du 0.2 μm .

Ensuite, les estérases intracellulaires sont mises en solution par lyse enzymatique des cellules. Pour 10 ml d'échantillon, on ajoute 200 μg de lysozyme (de blanc d'œuf). On laisse incuber pendant 10 minutes à température ambiante (Chróst, 1991). L'échantillon est ensuite centrifugé à 4500 RPM pendant 5 minutes à 4°C et filtré sur un filtre de porosité 0.2 μm .

Après la lyse mécanique ou enzymatique, on récupère 3.5 ml d'échantillon auquel on ajoute 35 μl de FDA (2mM). Une lecture au fluorimètre est réalisée après une heure d'incubation au noir à 25°C aux longueurs d'onde d'excitation/émission de 451 nm - 510 nm.

4.4. Calcul du taux de lyse cellulaire journalier

Le calcul du taux de lyse cellulaire journalier se base sur l'hypothèse que, à l'échelle de quelques heures, la production et la perte de l'activité d'AED devraient être en équilibre dynamique. Le protocole du suivi de la dégradation de l'AED d'Agusti et al. (2000) est le suivant :

1. Un suivi de la perte d'activité enzymatique est réalisé de façon à établir la courbe de décroissance exponentielle correspondante, qui permet de déterminer le taux de perte d'AED :

$$\mu_{(\text{perte})\text{AED}} (\text{h}^{-1}) = \ln (\text{AED}_0 / \text{AED}_t) / t$$

et le temps de demi-vie des estérases dans le milieu :

$$T_{0.5} (\text{h}) = \ln (0.5) / \mu_{(\text{perte})\text{AED}}$$

Dès le retour en laboratoire, une centaine de ml d'échantillon est filtré sur un filtre de porosité de 0.2 μm pour éviter tout apport d'estérase pendant l'expérience.

2. Le taux de production de l'AED ($\text{nmol fluorescéine.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$) est calculé à partir de la valeur de $T_{0.5}$ issue du taux de dégradation calculé ci-dessus et de la valeur d'AED mesurée dans le milieu :

$$\text{AED}_{(\text{prod})} = 0.5 * \text{AED} / T_{0.5}$$

3. Finalement, le taux de lyse du phytoplancton (μ_L en h^{-1}) est obtenu comme suit :

$$\mu_L = \ln (\text{AEI} - \text{AED}_{(\text{prod})} / \text{AEI}) / \text{h}$$

Avec : AED et AEI exprimés en $\text{nmol fluorescéine.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$

Le taux de lyse journalier s'obtient en multipliant μ_L par 24. On remarque que l'estimation du taux de lyse repose sur la diminution de l'AEI au cours du temps suite à la production d'AED lors de la lyse.

5. Mesure de la production bactérienne

5.1. Introduction

De nombreuses méthodes pour mesurer la production bactérienne existent. Les plus utilisées sont la mesure de l'incorporation de thymidine tritiée dans l'ADN bactérien (Azam et Fuhrman, 1982) et la mesure du taux de synthèse de protéines estimés à partir du taux d'incorporation de leucine tritiée (Kirchman et al., 1985).

La première méthode offre l'avantage de sa spécificité et d'un protocole expérimental simple, c'est elle qui sera utilisée ici.

Elle consiste à évaluer la production de biomasse bactérienne à partir du taux de synthèse de l'ADN bactérien. La croissance chez les microorganismes est un processus complexe comprenant la synthèse des protéines, ARN et ADN, aboutissant à la division cellulaire. La synthèse de l'ADN est directement proportionnelle au taux de division cellulaire chez les bactéries.

Le taux de synthèse de l'ADN est estimé par la mesure du taux d'incorporation de (méthyl - ^3H)-thymidine dans l'ADN des bactéries hétérotrophes. On utilise préférentiellement la thymidine à un autre nucléoside car celle-ci est uniquement précurseur de l'ADN et non de l'ARN.

5.2. Méthode

En pratique, on incube les flacons contenant 10 ml d'échantillon d'eau, pour une durée de quelques minutes à quelques heures, en présence de ^3H -thymidine à une concentration finale saturante (11 nM). Ensuite, la réaction est bloquée avec l'ajout de 5 ml de TCA 15% à froid. Enfin, les échantillons sont filtrés sur des filtres en nitrate ou acétate de cellulose de porosité 0.2 μm . Les filtres sont rincés trois fois avec du TCA 5%. La radioactivité incorporée est mesurée par comptage au compteur à scintillation Beckmann LS 6000 SC, en ajoutant 10 ml de Filter Count[®].

La vitesse d'incorporation (v) de la thymidine tritiée est calculée par la relation suivante :

$$v \text{ (nmoles.l}^{-1}\text{.h}^{-1}\text{)} = (\text{DPM}_{\text{incorporé}} / \text{DPM}_{\text{ajouté}}) * {}^3\text{H}_{\text{ajouté}} * t^{-1} * (1000/V)$$

- $\text{DPM}_{\text{incorporé}}$: radioactivité incorporée dans la fraction insoluble au TCA froid (en DPM)
 $\text{DPM}_{\text{ajouté}}$: quantité de radioactivité ajoutée à l'échantillon sous forme de thymidine tritiée (en DPM)
 ${}^3\text{H}_{\text{ajouté}}$: quantité totale de thymidine tritiée ajoutée (nano-mole)
 t : temps d'incubation (heure)
 V : volume d'échantillon incubé en présence de thymidine (ml)

Pour convertir les mesures de taux d'incorporation de thymidine tritiée en production cellulaire (nombre de cellules produites.l⁻¹.h⁻¹), il est nécessaire d'utiliser un facteur de conversion (cellules produites par mole de thymidine incorporée dans la fraction insoluble de TCA froid). Ce facteur de conversion n'a pas été déterminé au cours de ce travail. Nous avons utilisé celui obtenu par Servais (1989) pour les eaux de la Haute Meuse belge : $0.5 \cdot 10^8$ cellules par mole de thymidine incorporée.

Résultats et Discussion

III. Résultats et Discussion

A. Falemprise

1. Mesure des paramètres généraux

1.1. Température, pH, oxygène dissous et conductivité

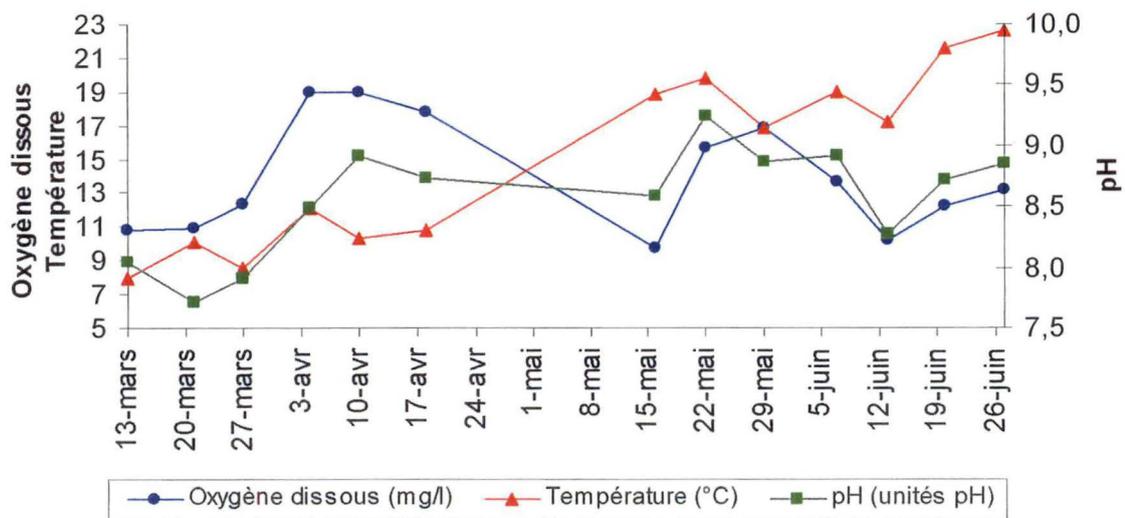


Figure 17 : Evolution du pH, de l'O₂ dissous et la température pour le lac de Falemprise entre le 13 mars et le 26 juin 2002

La température des eaux de Falemprise varie entre 8°C pour début mars et 22,7 °C pour fin juin. Le réchauffement des eaux du lac se fait de façon progressive au cours de la saison.

Les concentrations en oxygène dissous sont relativement élevées, variant de 10,8 à 19 mgO₂/l. Ces valeurs de sursaturation sont symptomatiques d'un lac très eutrophe, on peut s'attendre à rencontrer des problèmes d'oxygénation la nuit. On observe une corrélation entre la quantité d'oxygène et la température. En effet, quand la température de l'eau augmente, la quantité d'oxygène dissous diminue.

Les valeurs de pH varient entre 7,71 et 9,24 unités. Les eaux de Falemprise sont donc alcalines. Des valeurs de pH élevées s'expliquent par la photosynthèse du phytoplancton, très abondant.

1.2. Analyse des nutriments

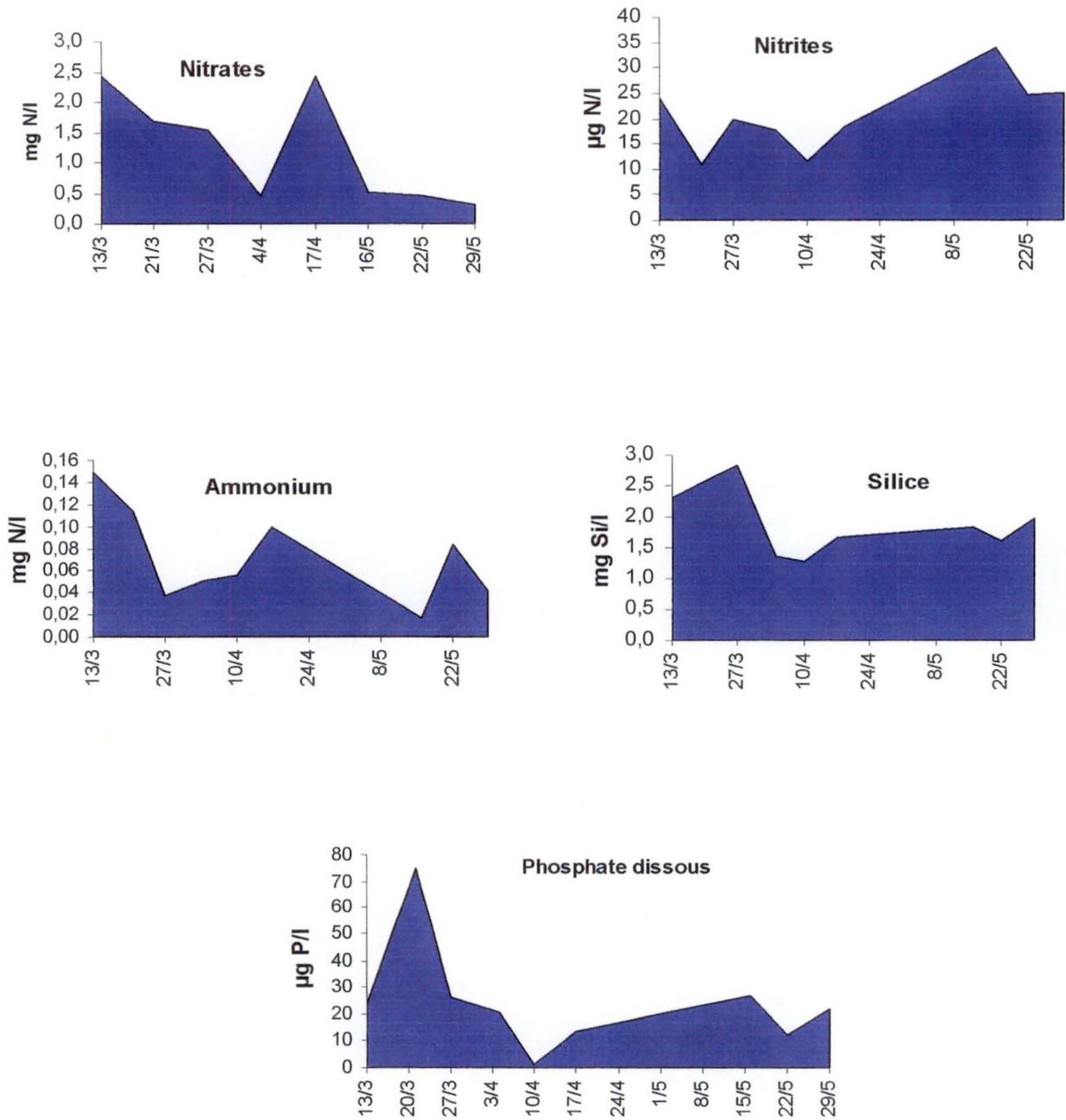


Figure 18 : Evolution des concentrations en nutriments pour le lac de Falemprie entre le 13 mars et le 29 mai 2002

La disponibilité en nutriments (N, P, Si) est variable au cours du temps, alors que nos données sont ponctuelles, car elle dépend des apports autochtones mais aussi des apports allochtones. Donc, leur concentration est susceptible de limiter la production primaire dans de nombreux milieux aquatiques.

La figure 18 montre que durant notre période d'échantillonnage, la concentration en nitrates varie de 0,32 à 2,43 mg N/l, celle des nitrites varie de 0,11 à 0,33 mg N/l, celle de l'ammonium varie de 0,02 à 0,15 mg N/l, celle de la silice varie de 1,28 à 2,82 mg Si/l et celle du phosphate varie de 1,40 à 75,18 µg P/l.

Ces conditions montrent que les apports en nutriments sont relativement importants. Cependant, on peut voir que les concentrations en silices et en phosphates diminuent à partir du 27 mars et n'augmentent de nouveau qu'à partir du 10 avril. Pendant cette période, on observe un bloom de diatomées qui consomme la silice et le phosphate dissous. En effet, la silice est un nutriment indispensable à la constitution de la paroi des algues siliceuses tels les diatomées et les Chrysophycées. En même temps, des concentrations inférieures à 10 µg P/l sont susceptibles d'être limitantes pour la croissance d'algues planctoniques tels que *Cyclotella meneghiniana*, *Stephanodiscus hantzschii* et *Chlorella sp.* Cependant, il n'est pas possible de dire si une limitation effective s'est produite dans notre cas. En fait, la baisse de P a lieu suite au développement d'un bloom, dont la consommation en P a fait temporairement baisser la concentration de ce nutriment.

2. Etude du phytoplancton

2.1. Biomasse phytoplanctonique

La mesure de la biomasse phytoplanctonique a été effectuée du 10 avril au 27 juin à raison d'une fois par semaine pendant la journée.

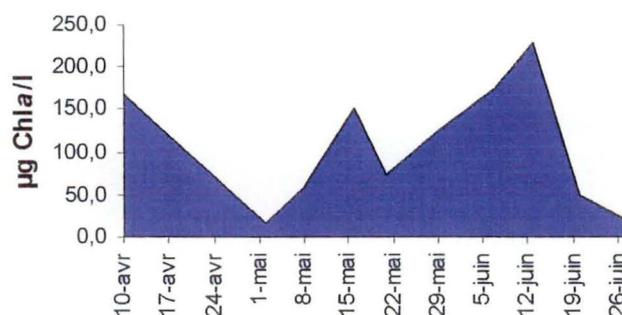


Figure 19 : Evolution de la biomasse phytoplanctonique pour le lac de Falemprise entre le 10 avril et le 27 juin 2002

Nous avons représenté, sur la figure 19, l'évolution de la biomasse phytoplanctonique en fonction du temps avec les résultats obtenus avec les extractions de pigments à chaud (solvant Acétone/Méthanol (5/1)). On peut voir que la biomasse varie fortement au cours du temps avec un minimum de biomasse de 17,4 µg Chl*a*/l, le 2 mai et un maximum de biomasse 228,5 µg Chl*a*/l, le 13 juin.

Le déclin de la biomasse, depuis avril jusque mai, s'accompagne d'un changement de la composition phytoplanctonique, avec une diminution progressive des diatomées et l'apparition de cyanobactéries (Figure 20). Ces changements sont probablement la conséquence de l'apparition de la stratification du lac : les diatomées, bien développées en période de mélange, sédimentent et sont remplacées par des cyanobactéries à vésicules gazeuses (*Aphanizomenon*) favorisées par la stratification.

2.2. Composition phytoplanctonique

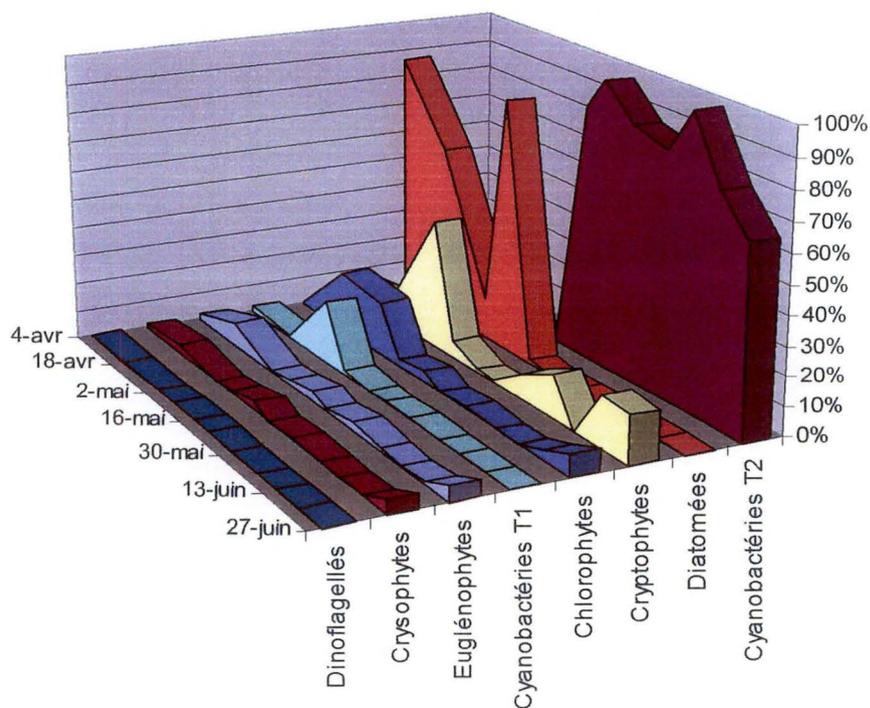


Figure 20 : Composition phytoplanctonique relative déterminée dans le lac de Falemprise pour la période du 4 avril au 27 juin 2002

La détermination des différentes classes d'algues présentes à Falemprise s'est réalisée d'après l'analyse des pigments en HPLC. Sur la figure 20, deux types d'algues dominent durant la période d'échantillonnage. Pendant le mois d'avril, ce sont les diatomées qui dominent la communauté phytoplanctonique alors que les deux mois suivant, ce sont les cyanobactéries.

Quand elles sont dominantes, les diatomées peuvent représenter jusque 85% de la biomasse totale tandis que les cyanobactéries représentent jusque 95% de la biomasse totale.

Il faut savoir que du 24 avril au 2 mai, le lac a subi une forte perturbation. En effet, comme c'est un lac artificiel, il subit continuellement des agressions. Durant cette période, en l'occurrence, il fut complètement vidangé pour permettre le nettoyage des berges. Mais nous ne sommes pas capables de déterminer si la succession de communautés phytoplanctoniques est réellement due à cette vidange ou si elle est due au fait des mélanges dans la colonne d'eau qui devraient se réaliser durant cette période.

Parallèlement, on constate la présence d'autres classes algales comme les Cryptophycées, les Chlorophycées ou encore les euglénophycées, mais celles-ci sont en proportion faible.

2.3. Production primaire

Le tableau 3, ci-dessous, est un récapitulatif des différents paramètres nécessaires au calcul de la production primaire dans le lac de Falemprise.

Date	Chla ($\mu\text{g/l}$)	k (/m)	Pmax (mg C/mg Chla.h)	Ik ($\mu\text{E/m}^2.\text{s}$)	Température ($^{\circ}\text{C}$)	PPJ (mg C/m ² .j)
10/04/02	166,7	3,0	0,48	154,2	10,3	508,0
18/04/02	112,5	2,3	0,95	152,9	10,8	601,0
08/05/02	58	2,0	2,54	127,7	12,5	1947,6
16/05/02	152,1	<u>2,0</u>	2,94	228,1	18,8	4164,7
21/05/02	72,5	1,9	7,46	273,6	19,8	5489,7
29/05/02	125,9	<u>1,9</u>	1,21	204,6	16,9	1101,9
07/06/02	175,1	2,9	2,08	147,9	19,0	1348,3
13/06/02	228,5	2,7	2,51	151,9	17,2	2235,0
27/06/02	20,3	2,2	1,70	223,8	22,7	285,9

Tableau 3 : Différents paramètres nécessaires au calcul de la production primaire brute journalière (PPJ) à Falemprise avec k, le coefficient d'extinction (/m)

Pour le 16 mai et le 29 mai, nous ne disposions pas des valeurs de coefficient d'extinction (k). Pour les déterminer, nous avons établi une relation entre le k et la $Chl a$ disponible pour les autres jours.

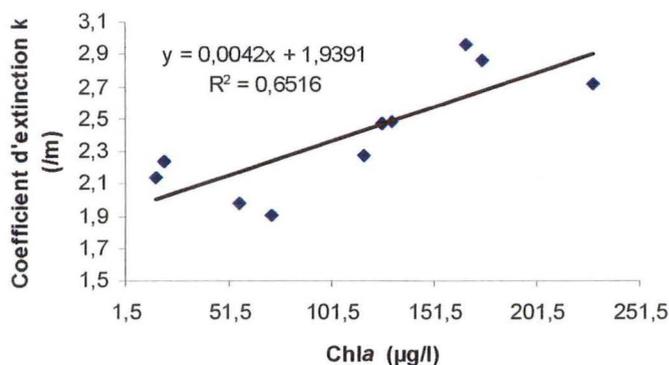


Figure 21 : Relation coefficient d'extinction (/m) et $Chl a$ ($\mu\text{g/l}$) pour Falemprise du 10 avril au 27 juin 2002

Nous avons estimé que la relation était bonne malgré un R^2 de 0,6. Les résultats obtenus via cette régression sont soulignés dans le tableau 3.

La production brute journalière (PPJ) du phytoplancton dans le lac de Falemprise oscille entre 285,9 et 4164,7 $\text{mg C}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{j}^{-1}$, si la valeur donnée le 21 mai qui semble aberrante n'est pas prise en compte. Le taux de photosynthèse à saturation lumineuse (P_{max}) donne une valeur beaucoup trop élevée ce jour là. D'une façon générale, les valeurs de production phytoplanctonique et de chlorophylle a mesurées mettent en évidence le caractère très eutrophe de ce lac.

Ces valeurs de PPJ ont été calculées sur base d'un rapport $C/Chl a$. Ce rapport n'ayant pas été déterminé pour le lac de Falemprise, nous avons utilisé la valeur de 40, qui est la valeur habituellement obtenue dans des milieux eutrophes.

Ne disposant d'aucune valeur de respiration algale, nous ne nous permettrons pas d'extrapoler cette valeur pour déterminer la production nette durant la période d'échantillonnage.

Les variations de PPJ sont nettement liées aux conditions météorologiques variables, l'éclairement journalier total pouvant fluctuer fortement d'un jour à l'autre mais également dans le courant d'une même journée, surtout en Belgique ! Ces fluctuations vont influencer les valeurs de I_k qui traduisent la photo-acclimatation des algues.

Comme cette photo-acclimatation demande un certain temps, l'efficience photosynthétique du phytoplancton est plutôt des conditions de lumière incidente des 2 ou 3 jours précédant plutôt que des conditions du jour même. De plus, la transparence de l'eau influence la lumière disponible dans la colonne d'eau ; or, les variations de transparence sont fortement liées à la biomasse algale (Descy et al., 1988) et aux matières en suspension, elles-mêmes corrélées au débit et aux précipitations. Ce sont donc les conditions météorologiques et la biomasse algale qui influencent fortement la lumière dans la colonne d'eau.

B. Tailfer

1. Mesure des paramètres généraux

1.1. Température et pH

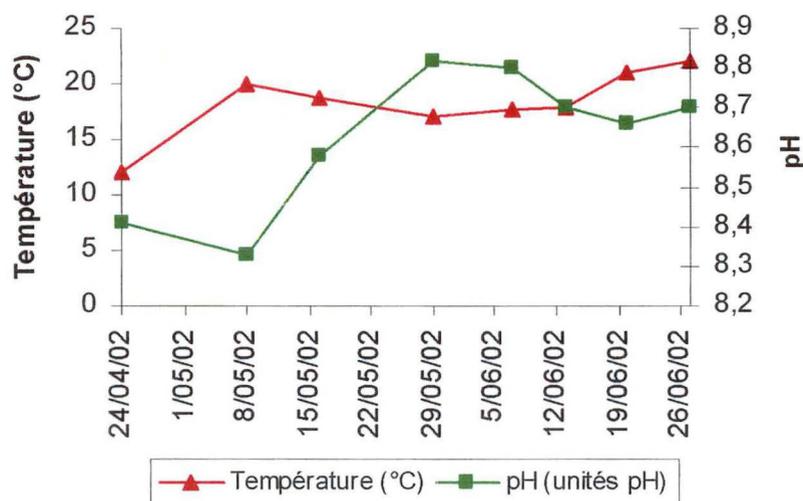


Figure 23 : Evolution du pH et de la température pour la Meuse à Tailfer entre le 24 avril et le 26 juin 2002

Le pH et la température sont les deux seuls paramètres qui ont été étudiés lors de cette campagne d'échantillonnage de 2002.

Les valeurs obtenues pour le pH cette année correspondent aux valeurs habituellement obtenues pour la Meuse, elles varient entre 8,3 et 8,8. La Meuse est donc caractérisée par des eaux alcalines, ce qui s'explique par le fait que le bassin de la Meuse se situe partiellement sur des roches calcaires, riches en carbonates.

La température de l'eau en Meuse augmente progressivement pendant le printemps. Sa variation, de 12 à 22°C, est typique de ce qui est rencontré habituellement en Meuse.

1.2. Analyse des nutriments

L'analyse des nutriments n'a pas été réalisée lors des échantillonnages. Mais nous pouvons nous référer aux valeurs données dans la littérature car la Meuse a souvent été étudiée et nous connaissons bien la qualité de ses eaux. Nous prendrons des valeurs de nutriment données par Gosselain (1998) pour le site de La Plante en Meuse pour les années 1994, 1995 et 1996.

Année	Azote total (mg N/l)	Silice (mg Si/l)	SRP ($\mu\text{g P/l}$)
1994	4,3	1,86	71
1995	3,6	1,64	55
1996	/	1,08	75

Tableau 4 : Moyenne des concentrations en azote inorganique total, silice et orthophosphates pour les années 1994, 1995 et 1996 dans la Meuse à La Plante (D'après Gosselain, 1998)

Il faut savoir que la Meuse est une grande rivière de type eutrophe, qu'elle reçoit les eaux de drainage d'un bassin versant où l'agriculture est souvent intensive, ainsi que les eaux usées des habitants vivant sur ce bassin versant. Les apports en nutriments sont donc importants et ne limitent généralement pas la croissance algale. Cependant, il peut arriver que les concentrations en silice diminuent pendant les blooms et deviennent limitantes pour la croissance des diatomées (Everbecq et al., 2001).

2. Etude du phytoplancton

2.1. Biomasse phytoplanctonique

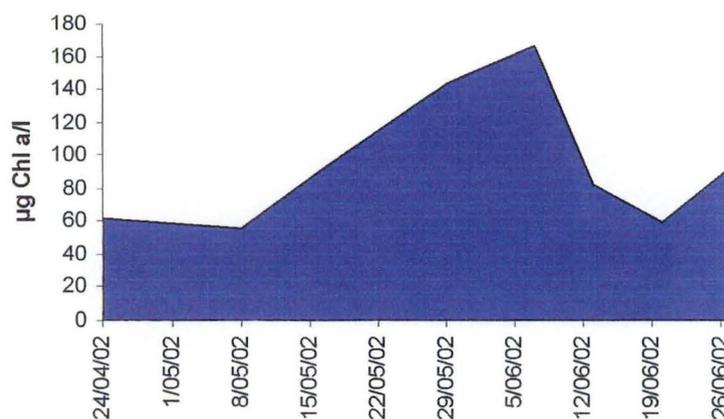


Figure 24 : Evolution de la biomasse phytoplanctonique, estimée d'après la concentration en chlorophylle a, pour la Meuse à Tailfer, entre le 24 avril et le 27 juin 2002

La mesure de la biomasse phytoplanctonique a été effectuée du 24 avril au 27 juin à raison d'une fois par semaine durant la journée.

Sur la figure 24, on peut voir que la biomasse phytoplanctonique varie entre 61,5 $\mu\text{g Chla/l}$ le 24 avril et 93,4 $\mu\text{g Chla/l}$ le 27 juin. Nous observons un pic de biomasse entre le 15 mai et le 15 juin, un même pic avait été observé en 2001 à la même période de l'année.

2.2. Composition phytoplanctonique

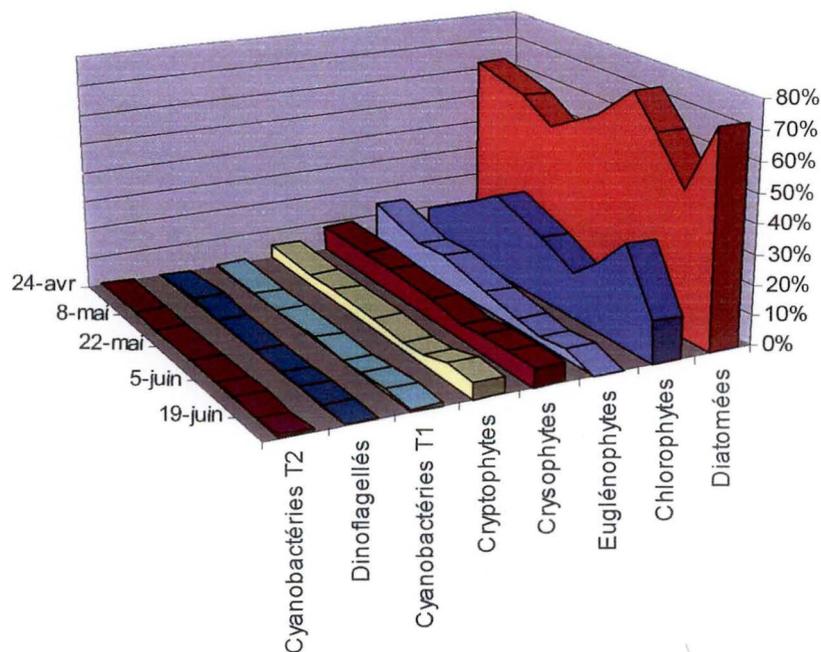


Figure 25 : Composition phytoplanctonique relative déterminée en Meuse à Tailfer pour la période du 24 avril au 27 juin 2002

L'analyse des pigments en HPLC montre, qu'au cours de la période échantillonnée, les diatomées sont dominantes. Elles représentent jusqu'à 70% de la biomasse totale. On retrouve ensuite les chlorophycées, qui peuvent aller jusqu'à 30% de la biomasse totale. Les autres groupes algaux ont une biomasse comparativement moins importante.

Comme nous l'avons déjà dit, la Meuse est une rivière très étudiée, ce qui nous permet de remarquer que la composition phytoplanctonique trouvée cette année est comparable aux observations réalisées les années précédentes dans le même secteur de la rivière.

2.3. Production primaire

Le tableau 5 ci-dessous est un récapitulatif des différents paramètres nécessaires au calcul de la production primaire dans la Meuse à Tailfer.

Date	Chla ($\mu\text{g/l}$)	k (m)	Pmax (mg C/mg Chla.h)	Ik ($\mu\text{E/m}^2.\text{s}$)	Température ($^{\circ}\text{C}$)	PPJ (mg C/m ² .j)	PPN (mg C/m ² .j)	taux de croissance μ (/j)
24/04/02	61,5	1,5	0,94	181,46	12	736,4	59,65	0,0061
16/05/02	90,2	1,9	3,76	224,72	18,7	4260,4	2185,64	0,1444
29/05/02	143,8	1,9	3,67	199,60	17	5157,4	1899,53	0,0813
7/06/02	166,5	2,3	3,51	142,28	17,65	2747,8	-907,28	-0,0356
13/06/02	82,4	1,8	3,89	208,88	18	1432,9	-511,17	-0,0406
20/06/02	58,6	1,6	4,12	188,39	21	1832,2	391,28	0,0419
27/06/02	93,4	2,2	1,97	163,81	22	1870,2	440,17	0,0298

Tableau 5 : Différents paramètres nécessaires au calcul de la production primaire brute journalière (PPJ) et de la production primaire nette (PPN) dans la Meuse à Tailfer

La production brute journalière (PPJ) du phytoplancton dans la Meuse à Tailfer oscille entre 736,4 et 5157,4 mg C.m².j⁻¹. Ces valeurs confirment bien le caractère eutrophe du fleuve.

Ces valeurs de PPJ sont calculées sur base d'un rapport C/Chla de 40, qui est la valeur habituellement obtenue dans des milieux eutrophes. La respiration algale n'a pas été déterminée mais nous pouvons cependant l'estimer selon la relation déterminée par Descy et al. (1994) : $r \text{ (mg C.mg Chla}^{-1}.\text{h}^{-1}) = (0,046 \cdot \text{Pmax}) + 0,073$. La respiration journalière sur la colonne d'eau est obtenue ensuite en multipliant r par 24, par les valeurs de biomasses phytoplanctoniques et par la profondeur moyenne du fleuve. Disposant de cette valeur, nous pouvons ensuite évaluer la production primaire nette et les taux de croissance des algues présentes.

Pendant la période d'échantillonnage, la production nette est toujours supérieure à la respiration, leur valeur varie entre 59,6 et 2185,64 mg C/m².j. Nous observons cependant, le 7 juin et le 13 juin, que la respiration algale est supérieure à la production nette, ce qui influence leur taux de croissance.

La figure 26 met en relation alpha avec le rapport de I_0/k . Même si le R^2 est faible, on voit que l'efficacité photosynthétique augmente quand l' I_0/k diminue.

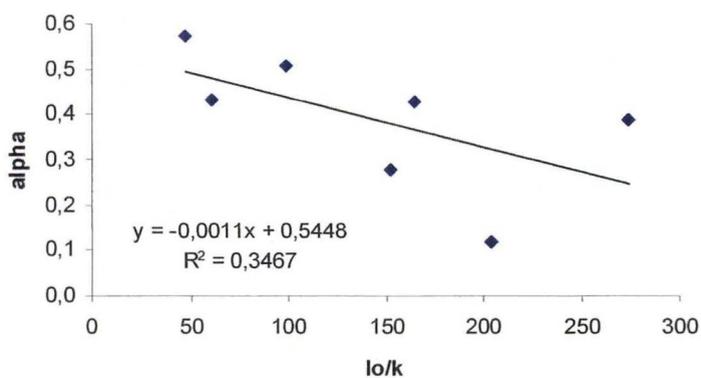


Figure 26 : Relation entre alpha et le rapport entre I_0/k pour Tailfer
Avec I_0 représentant l'intensité lumineuse reçue
à la surface pendant la journée ($\mu E.m^{-2}.s^{-1}$)

C. Lyse cellulaire et production bactérienne

Il est bon de rappeler ici que le principe de la méthode d'estimation du taux de lyse, selon Agusti et al.(1998, 2000), repose sur la mesure au cours du temps de l'augmentation de l'activité estérasique dissoute (AED) exprimée par rapport à l'activité estérasique interne (AEI). L'AEI propre aux différentes cellules phytoplanctoniques est déterminée dans des cultures axéniques en phase de croissance exponentielle. Une mesure en parallèle de la Chla permet le calcul des contenus enzymatiques cellulaires exprimés en AEI/Chla. Cette mesure semble variable suivant la culture algale. Par manque de temps, nous n'avons pas déterminé l'AEI pour les cinq cultures algales comme initialement prévu, mais a seulement été déterminé pour *Cyclotella meneghiniana*.

1. Détermination de l'activité estérasique interne (AEI)

- **Méthode de sonication**

- Détermination du temps de sonication

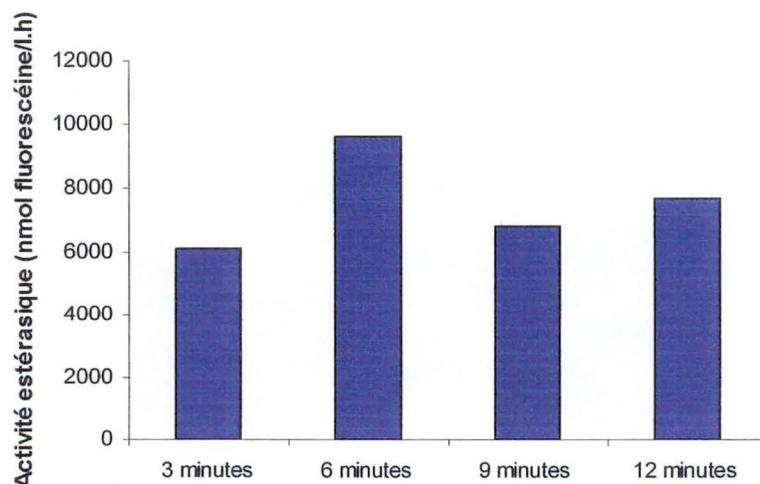


Figure 27 : Détermination du temps de sonication optimal pour *Kirchneriella subcapitata*

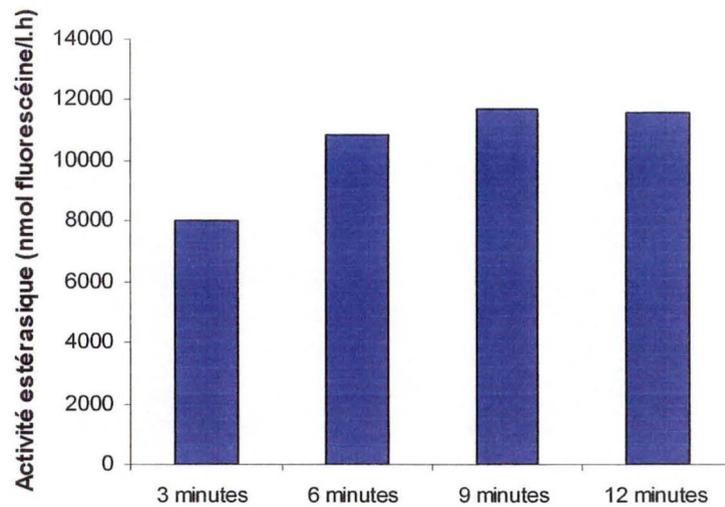


Figure 28 : Détermination du temps de sonication optimal pour *Cyclotella meneghiniana*

Nous pouvons conclure, au regard des figures 27 et 28, que le temps optimal de sonication pour *Kirchneriella subcapitata* est de 6 minutes et que celui pour *Cyclotella meneghiniana* est de 9 minutes. Pour des temps supérieurs, il semble y avoir une dégradation des estérases. Pour chaque temps de sonication, nous avons vérifié au microscope que les algues étaient bien détruites.

- Détermination du rapport AEI/Chl a

Après avoir déterminé le temps nécessaire de sonication, nous pouvons déterminer une valeur moyenne d'AEI/Chl a de 8,89 nmole de fluorescéine. $\mu\text{g Chl}a^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour *Cyclotella meneghiniana*. Nous n'avons pas déterminé, par manque de temps, ce rapport pour *Kirchneriella subcapitata*.

- Méthode du lysozyme

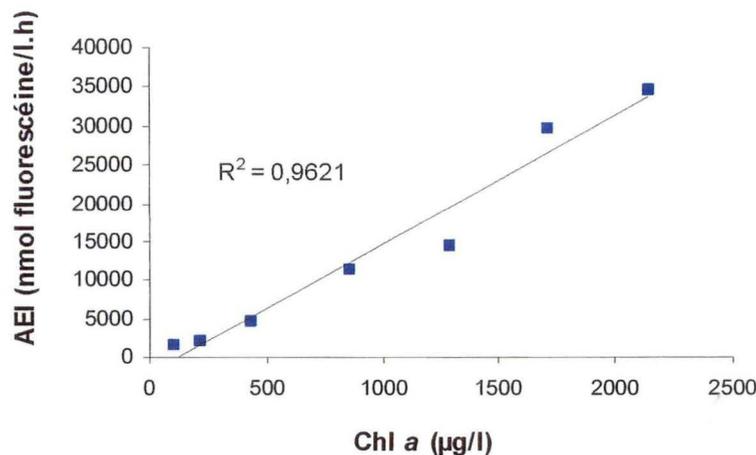


Figure 29 : Evolution de l'activité estérasiqne interne pour différentes biomasses en *Cyclotella meneghiniana* et pour une même quantité de lysozyme (2 mM)

La figure 29 montre que pour une même quantité de lysozyme (2 mM) ajouté à des biomasses croissantes en algues, la réponse en activité estérasiqne est toujours en augmentation. Ceci signifie que la quantité de lysozyme utilisée pour lyser nos cellules algales est suffisante, en tous cas pour des valeurs de Chla allant jusque 2000 µg/l.

Pour *Cyclotella meneghiniana* et avec la méthode de lyse enzymatique, nous avons déterminé un rapport moyen d'AEI/Chla de 13,3 nmol de fluorescéine.µg Chla⁻¹.h⁻¹. Nous n'avons pas déterminé, faute de temps, ce rapport pour *Kirchneriella subcapitata*. Nous pouvons mentionner à titre indicatif qu'une valeur d'AEI/Chla de 11,7 a été obtenue lors d'une étude précédente pour une culture d'algues vertes (Antoine, 2001). Cependant, la méthode de mesure était sensiblement différente.

En conclusion, il semble y avoir une certaine perte d'activité enzymatique lorsqu'on utilise la méthode de lyse mécanique par rapport à la lyse enzymatique. C'est pourquoi nous avons choisi de prendre la valeur moyenne 13,3 obtenue pour *Cyclotella meneghiniana*, une diatomée, comme rapport d'AEI/Chla. Ce rapport obtenu avec des algues en cultures, sera utilisé dans le point suivant pour la détermination du taux de lyse phytoplanctonique.

2. Détermination du taux de lyse

Une fois libérée dans le milieu, les estérases sont dégradées par altération physico-chimique des protéines et par hydrolyse bactérienne. Il est donc nécessaire de calculer un taux de dégradation de l'AED ($\mu_{\text{(perte)AED}}$). Ce taux de perte nous permet ensuite de calculer le temps de demi-vie ($T_{0,5}$) des estérases dans le milieu et de déterminer enfin la quantité d'estérases dissoutes produites (AED prod). Le détail des mesures utilisées pour déterminer le taux de dégradation de l'AED est donné en annexe.

▪ Falemprise

Date	Biomasse algale ($\mu\text{g Chl}a/l$)	$\mu_{\text{(perte)AED}}$ (/h)	$T_{0,5}$ (h)	AED prod (nmol fluo./l.h)	Taux de lyse (/j)
02/05/02	17,4	-0,0887	7,81	0,558	-0,058
16/05/02	152,1	-0,0344	20,15	0,749	-0,009
29/05/02	125,9	-0,0155	44,72	0,210	-0,003
07/06/02	175,1	-0,0930	7,45	1,934	-0,020
13/06/02	228,5	-0,0143	48,47	0,237	-0,002
20/06/02	48,7	-0,0065	106,64	0,105	-0,004
27/06/02	20,3	-0,0106	65,39	0,143	-0,018

Tableau 6 : Paramètres utilisés pour le calcul du taux de lyse journalier à Falemprise

Le tableau 6 est une synthèse des paramètres utilisés pour calculer le taux de lyse phytoplanctonique journalier. Comme dit précédemment, la population algale présente à Falemprise est très hétérogène, en tous cas à cette période de l'année. Les diatomées sont dominantes en début de période d'étude, à partir de mai ce sont les cyanophycées qui dominent. Il aurait été judicieux d'avoir déterminé une valeur d'AEI/Chl*a* pour des cyanophycées. Puisqu'en effet, étant dominante dans les eaux du lac, il semble logique d'utiliser un rapport correspondant à leur quantité d'estérase intracellulaire. En utilisant le rapport AEI/Chl*a* déterminé pour les diatomées, nous apportons probablement une imprécision dans le calcul du taux de lyse.

Les résultats montrent que la quantité d'estérases dissoutes produites par les communautés algales présentes à Falemprise, durant la période d'échantillonnage, paraît assez faible, variant de 0,105 à 1,934 nmol fluorescéine/l.h. Le temps de demi-vie des estérases dans le milieu semble très variable, allant de 7,81 à 106,64 h. Le taux de lyse varie entre 0,002 et 0,058 j^{-1} .

La valeur obtenue pour le taux de lyse à la date du 7 juin nous pose question. En effet, elle est plus élevée que les autres valeurs. Nous pouvons suspecter une erreur de mesure. Cependant, il est tout à fait aussi logique de se demander, si ce n'est pas justement cette valeur, considérée *a priori* comme une erreur en vue des autres, qui serait la détermination correcte du taux de lyse ... Ne disposant d'aucune valeur pour comparer nos taux de lyse à Falemprise, nous n'en dirons rien de plus.

Si on met en graphique le taux de lyse et la biomasse algale au cours du temps (Figure 30), et le taux de lyse et la PPJ au cours du temps (Figure 31), on obtient les graphes suivants :

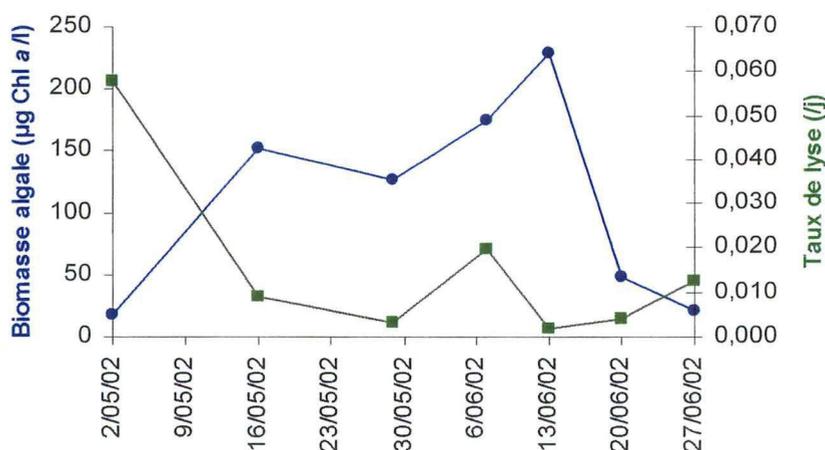


Figure 30 : Evolution du taux de lyse en fonction de la Chlorophylle *a* pour Falemprise pour la période du 2 mai au 27 juin 2002

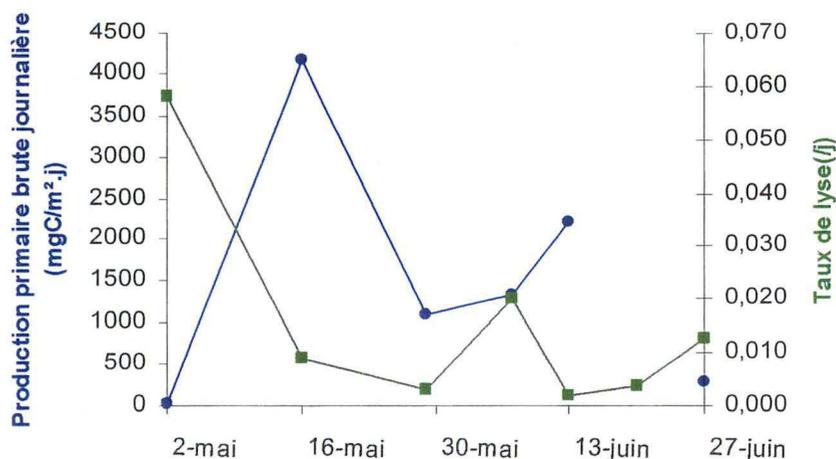


Figure 31 : Evolution du taux de lyse en fonction de la PPJ pour Falemprise pour la période du 2 mai au 27 juin 2002

Nous observons une certaine relation entre la production phytoplanctonique et le taux de lyse. En effet, lorsqu'on observe un pic de biomasse phytoplanctonique, parallèlement, on peut observer un pic de production et des taux de lyse peu élevés.

▪ Tailfer

Date	Biomasse algale ($\mu\text{g Chla/l}$)	$\mu(\text{perte})\text{AED}$ (/h)	$T_{0,5}$ (h)	AED prod (nmol fluo./l.h)	Taux de lyse (/j)	Flux de Carbone provenant de lyse ($\text{mg C/m}^2\cdot\text{j}$)
24/04/02	61,5	-0,003	210,04	0,024	-0,0007	6,6
16/05/02	90,2	-0,029	23,90	0,430	-0,0086	121,0
29/05/02	143,8	-0,035	20,03	0,663	-0,0083	186,6
07/06/02	166,4	-0,162	4,27	3,612	-0,0392	1017,7
13/06/02	82,4	-0,011	63,01	0,125	-0,0027	35,1
20/06/02	58,6	-0,012	56,35	0,187	-0,0058	52,7
27/06/02	93,4	-0,008	84,53	0,099	-0,0019	27,9

Tableau 7 : Paramètres utilisés pour le calcul du taux de lyse journalier en Meuse à Tailfer

Le tableau 7 est une synthèse des paramètres utilisés pour calculer le taux de lyse phytoplanctonique journalier. Les diatomées étant dominantes dans les eaux de Tailfer pendant toute la période étudiée, nous pouvons considérer comme valable le fait d'adopter le rapport AEI/Chla de 13,3 pour le calcul du taux de lyse.

Les résultats montrent que la quantité d'estérases dissoutes produites par les communautés algales présentes à Tailfer, durant la période d'échantillonnage, est assez faible, variant de 0,024 à 3,612 nmol fluorescéine/l.h. Le temps de demi-vie des estérases dans le milieu semble très variable en fonction du temps, allant de 4,27 à 210,04 h. Quant au taux de lyse, il varie entre 0,0007 et 0,0392 j^{-1} .

Pour ce milieu, on peut faire une estimation approchée de la contribution de la lyse aux flux de carbone en multipliant le taux de lyse par le facteur C/Chla de 40 et par la biomasse algale présente. Ce flux de carbone, provenant de la lyse des algues en présence à Tailfer, fluctuerait entre 6,6 et 186,6 $\text{mg C/m}^2\cdot\text{j}$, si l'on exclut la valeur du 7 juin.

Si on met en graphique, comme pour Falemprise, le taux de lyse et la biomasse algale au cours du temps (Figure 32), et le taux de lyse et la PPJ au cours du temps (Figure 33) pour Tailfer, on obtient les graphes suivants :

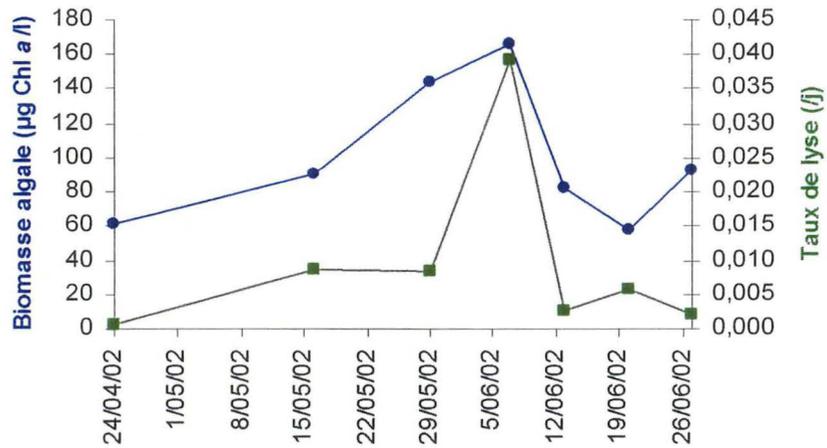


Figure 32 : Evolution du taux de lyse en fonction de la Chlorophylle *a* pour la Meuse à Tailfer pour la période du 24 avril au 27 juin 2002

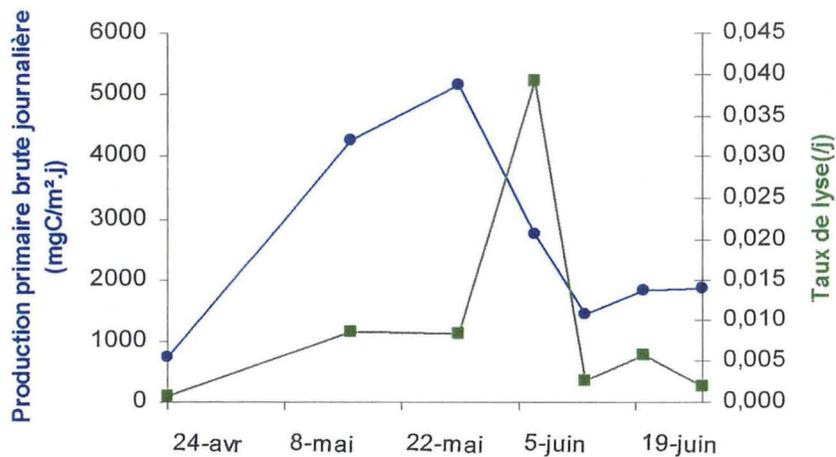


Figure 33 : Evolution du taux de lyse en fonction de la PPJ pour Tailfer pour la période du 24 avril au 27 juin 2002

Pour Tailfer, il apparaît que le taux de lyse le plus élevé correspond à un pic de biomasse qui représente un maximum possible pour la Meuse dans le secteur étudié. On peut donc penser que la lyse intervient quand la production de cette biomasse devient insuffisante pour qu'elle puisse se maintenir, c'est probablement ce qui s'est produit le 7 juin. On serait donc en présence d'une communauté algale sénescente.

3. Détermination de la production bactérienne

La production bactérienne a été mesurée chaque semaine suivant la technique de marquage du matériel génétique par l'incorporation de ^3H -thymidine (Fuhrman et Azam, 1980, 1982).

Le calcul de la production bactérienne nécessite la connaissance du nombre de cellules produites/l.h et les biomasses carbonées par bactéries. Ces deux facteurs de conversion n'ont pas été déterminés au cours de notre étude, ni pour Falemprise, ni pour la Meuse. Nous avons utilisé les mêmes facteurs que ceux qui ont été déterminés pour la Meuse

(Servais et al., 2000), c'est à dire $0,5 \cdot 10^{18}$ cellules/mole de thymidine incorporée et 22,96 fg C/bactéries (Pirlot, 2001) pour les deux milieux étudiés.

▪ Falemprise

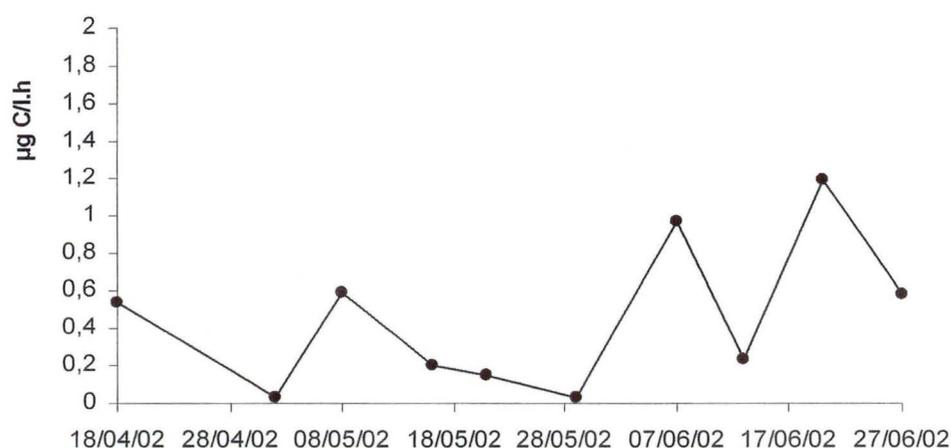


Figure 34 : Evolution de la production bactérienne ($\mu\text{g C/l.h}$) pour Falemprise pour la période du 18 avril au 27 juin 2002

D'une manière générale, on peut observer, sur la figure 34, une augmentation progressive en fonction du temps de la production bactérienne pour Falemprise. Les valeurs de production bactérienne varient entre $0,034 \mu\text{g C/l.h}$, le 2 mai et $1,194 \mu\text{g C/l.h}$, le 20 juin. Rappelons toutefois que les coefficients utilisés pour calculer la production bactérienne n'ont pas été établis pour le lac de Falemprise.

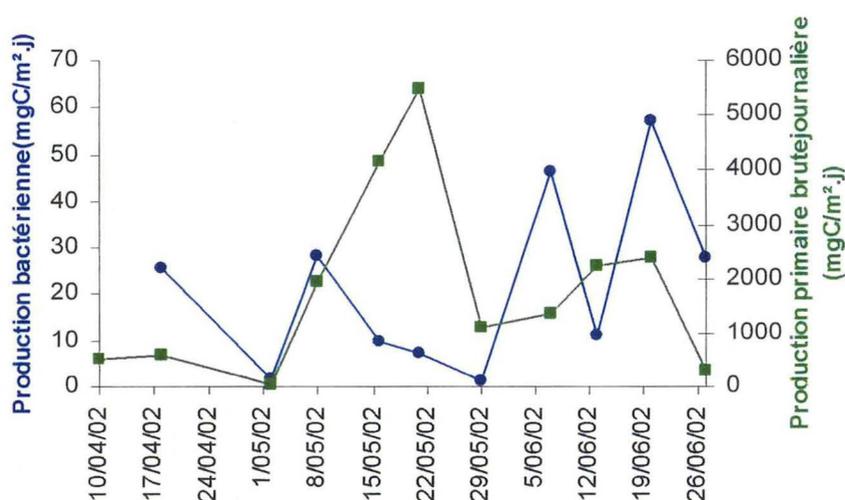


Figure 35 : Evolution de la production bactérienne et de la PPJ pour Falemprise pour la période du 10 avril au 27 juin 2002

La figure 35 montre un décalage dans le temps entre les pics de production primaire et de production bactérienne. Quand il y a peu d'algues et peu de production primaire, les bactéries doivent trouver une source de carbone au niveau d'apports allochtones. On observe une bonne production primaire jusqu'au 22 mai, ensuite elle diminue. On peut voir, figure 33, que c'est à cette période qu'il y a un pic de taux de lyse. Un pic de production bactérienne suit ce taux de lyse important. On peut donc penser que les bactéries profitent de ce carbone autochtone devenu disponible suite à la lyse phytoplanctonique.

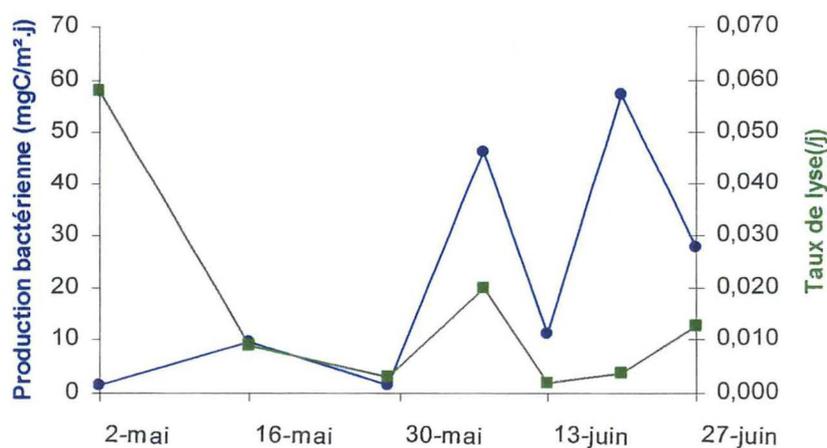


Figure 36 : Evolution de la production bactérienne et du taux de lyse pour Falemprise pour la période du 2 mai au 27 juin 2002

Nous ne pouvons pas déterminer pour Falemprise le pourcentage de contribution de la lyse phytoplanctonique vers les bactéries. Cependant, la figure 36 peut nous fournir quelques renseignements. En particulier, il nous montre que quand il y a un pic de taux de lyse, un pic de production bactérienne se produit. Nous pensons donc que les bactéries utilisent pendant cette période le carbone relargué par les algues.

■ Tailfer

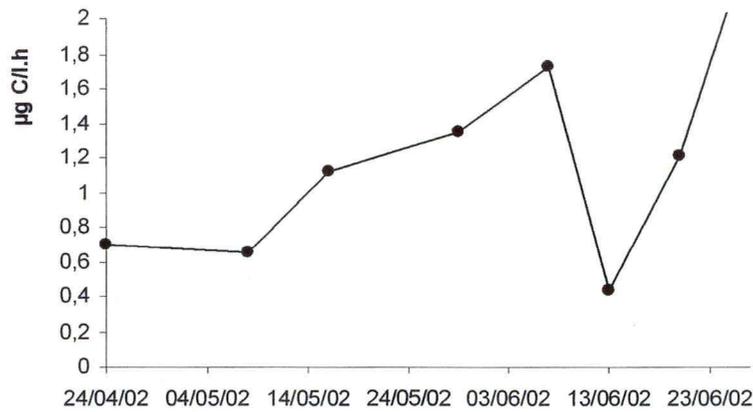


Figure 37 : Evolution de la production bactérienne (µgC/l.h) pour la Meuse à Tailfer pour la période du 24 avril au 27 juin 2002

D'une manière générale, on peut observer, sur la figure 37, une augmentation progressive en fonction du temps de la production bactérienne à Tailfer. La production varie entre 0,65 µg C/l.h, le 8 mai et 1,72 µg C/l.h, le 7 juin. Ces valeurs sont assez faibles comparées aux résultats obtenus, pendant la même période, en 2001 par Pirlot à Tailfer : 2 µg C/l.h, le 28 mai et 9,2 µg C/l.h, le 3 juillet. Cette sous-estimation semble difficile à expliquer.

La figure ci-dessous montre également un décalage dans le temps à Tailfer entre la production bactérienne et la production primaire.

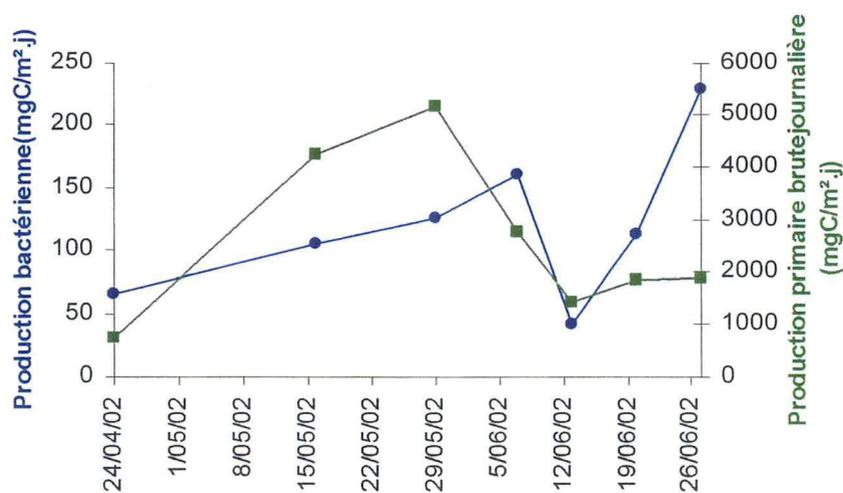


Figure 38 : Evolution de la production bactérienne et de la PPJ pour Tailfer pour la période du 24 avril au 27 juin 2002

La figure 39, mettant en relation la production bactérienne et le taux de lyse en fonction du temps à Tailfer. Le pic de lyse phytoplanctonique semble correspondre à celui des bactéries.

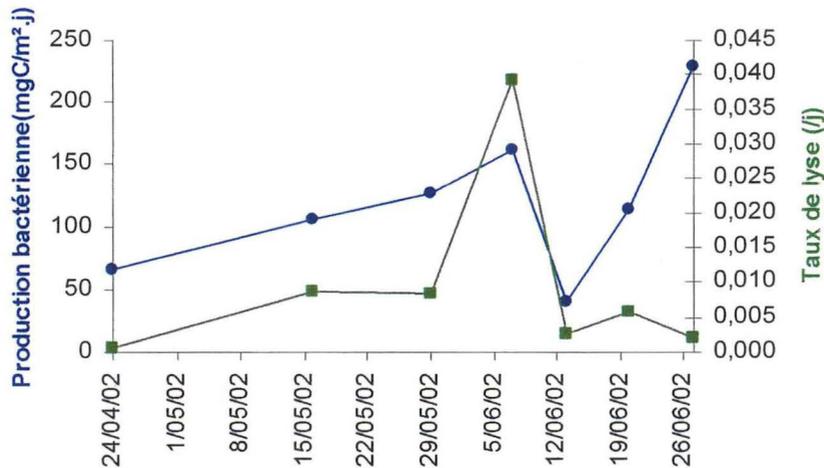


Figure 39 : Evolution de la production bactérienne et du taux de lyse pour Tailfer pour la période du 24 avril au 27 juin 2002

Nous avons la possibilité pour Tailfer, d'aller un peu plus loin dans les résultats obtenus. En effet, nous pouvons estimer approximativement, la contribution de la lyse à la demande en carbone par les bactéries (DBC) présentent dans ce fleuve (Tableau 8).

Date	Pbactérienne (mg C/m ² .j)	DBC (mg C/m ² .j)	Flux de C lyse (mg C/m ² .j)	PPJ (mg C/m ² .j)	COE (mg C/m ² .j)	DOC Phyto	rapport (lyse/DBC %)
24/04/02	65,59	218,63	6,68	736,41	51,55	58,23	3,06
16/05/02	105,22	350,74	121,089	4260,4	298,23	419,32	34,52
29/05/02	126,27	420,89	186,661	5157,35	361,01	547,68	44,35
7/06/02	161,07	536,90	1017,728	2747,81	192,35	1210,07	189,56
13/06/02	40,86	136,20	35,073	1432,91	100,30	135,38	25,75
20/06/02	113,28	377,60	52,764	1832,18	128,25	181,02	13,97
27/06/02	229,81	766,03	27,947	1870,18	130,91	158,86	3,65

Tableau 8 : Récapitulatif des valeurs nécessaires à l'estimation du rapport lyse phytoplanctonique / demande bactérienne en carbone (DBC) pour Tailfer à partir du 24 avril jusqu'au 27 juin 2002

En effet, la demande bactérienne en carbone peut être calculée en divisant la production bactérienne par le rendement de croissance de 0,3 obtenu expérimentalement sur les communautés bactériennes de la Meuse (Servais, 1989). On voit que la DBC peut varier entre 0,136 et 0,766 g C/m².j. On sait par ailleurs, que carbone organique excrété (COE) par le phytoplancton représente 70 % de la production primaire.

Il nous est ensuite possible d'estimer le carbone organique libéré par les algues (DOC Phyto) en Meuse, en additionnant les flux de carbone provenant de la lyse et de l'excrétion. Nous voyons tout de suite que la valeur estimée pour le 7 juin est très élevée. Peut être que cette valeur plus élevée est seulement due à une erreur de manipulation mais elle peut très bien être la seule valeur réellement représentative. La contribution de la lyse aux flux de C autochtone vers les bactéries est en moyenne de 20,88 %.

Le DOC phyto calculé est sans doute trop faible, ce qui montrerait que les valeurs absolues de taux de lyse sont probablement trop basses. Des modèles ont permis de déterminer un taux de mortalité de l'ordre de 0.1 j⁻¹: la plupart du temps les résultats de taux de lyse obtenus sont 10 fois moins élevés. Cependant, il se peut que les algues soient en très grande forme pendant la période d'échantillonnage, ce qui expliquerait les faibles taux de lyse mesurés.

Néanmoins, il est certainement nécessaire de remettre en cause le principe même de la mesure du taux de lyse. Même si aux premiers abords cette méthode semble simple, sa mise en pratique s'est avérée plus délicate. Lors d'un suivi temporel pendant lequel plusieurs groupes algaux se succèdent, il semble que la détermination d'un rapport AEI/Chla pour chacun de ces groupes algaux soit essentiel. La méthode de mesure de l'AED et de sa dégradation reste toujours, à l'heure actuelle, sujette à critiques et discussions. Nous avons en effet remarqué des problèmes de stabilité du substrat lors de la mise au point de la détermination de l'activité estérasiqne interne en fonction du type et de la concentration des tampons. De plus, il paraît difficile de mesurer cette stabilité lors de la détermination de l'AED. Lors de notre étude, deux types de tampon ont été utilisés, l'Hepes-Na₂EDTA et du Tris-Na₂EDTA, aux concentrations précisées dans la partie matériel et méthode. Les résultats obtenus nous montrent une meilleure stabilité quand le tampon Tris-Na₂EDTA, ajusté à pH 8 est utilisé.

Conclusion et Perspectives

Au cours de ce travail, depuis le début avril jusqu'à la fin juin 2002, un suivi du phytoplancton et de la production bactérienne a été réalisée dans deux milieux eutrophes différents, un milieu lacustre, le lac de Falemprise et un milieu fluvial, la haute Meuse belge, le site de Tailfer. L'objectif de ce travail est de donner une première estimation de la contribution de la libération de carbone organique dissous via la lyse phytoplanctonique à la demande en carbone organique bactérienne.

Bien que l'existence d'un couplage entre production algale et production bactérienne ait déjà été démontré, notamment dans le secteur de la Meuse belge étudié ici, les différents processus par lesquels le carbone organique phytoplanctonique devient disponible pour les bactéries n'ont jamais fait l'objet d'une étude exhaustive. Au niveau de la boucle microbienne, qui consiste dans le recyclage du carbone organique dissous vers la chaîne trophique, la première étape est l'assimilation par les bactéries de carbone organique dissous « libéré » par le phytoplancton. *A priori*, cette libération de carbone peut être le résultat d'une lyse des cellules algales, de l'excrétion ou encore du « sloppy feeding » lors du broutage des algues par le zooplancton. La lyse phytoplanctonique peut alors être un processus-clé dans la dynamique des écosystèmes planctoniques puisqu'elle libère dans le milieu des substances organiques potentiellement assimilables par les bactéries.

Paradoxalement, la lyse cellulaire a été peu étudiée en milieu naturel, principalement en raison de l'absence de méthode adéquate. Récemment, Van Boekel et al. (1992) ont proposé une méthode d'estimation de la lyse cellulaire. Cette méthode est basée sur la mesure de l'activité d'enzymes cytoplasmiques, les estérases, libérées dans le milieu au cours du temps après une rupture cellulaire.

Dans un premier temps, notre travail a consisté à la mise au point méthodologique de la mesure du taux de lyse algale, utilisée jusque là en milieu marin, dans un second temps, elle a été appliquée aux algues présentes dans nos deux milieux étudiés. Nous avons en même temps procédé à des mesures de production primaire et de production bactérienne.

La mesure du taux de lyse nécessite la connaissance du taux d'estérases intracellulaires (AEI, pour « activité estérasique interne »), qui pourrait varier en fonction de l'appartenance taxonomique des algues et de leur état physiologique. Deux méthodes de libération des estérases intracellulaires ont été proposées, soit une sonication soit l'utilisation de lysozyme (Agusti et al., 1998, 2000). Par manque de temps nous n'avons pu déterminer un rapport moyen d'AEI/Chl_a que pour *Cyclotella meneghiniana*, qui était de 13,3 nmoles de fluorescéine/μg Chl_a.h. Ce rapport moyen a été déterminé avec la méthode enzymatique qui donne une réponse plus élevée que la méthode de sonication. L'utilisation d'une valeur unique d'AEI/Chl_a entraîne évidemment une incertitude pour la détermination du taux de lyse à Falemprise, vu que les diatomées ne sont pas dominantes pendant toute la durée de l'étude. De plus, nous savons que des surestimations ou des sous-estimations peuvent être commises au niveau de la détermination de l'activité dissoute et du temps de demi-vie des estérases (Agusti et al., 2002 et Brussaard et al., 2002).

On peut en tous cas dire que la méthode d'estimation du taux de lyse reste encore à améliorer. Il serait nécessaire, pour une étude ultérieure, de déterminer pour différents groupes d'algues en culture, un rapport spécifique d'AEI/Chla, ce qui était initialement prévu dans cette étude mais qui par faute de temps n'a pas été déterminé. Il nous semble aussi important de vérifier la stabilité du substrat (FDA), qui peut subir une hydrolyse non enzymatique, de déterminer le tampon idéal pour les différentes mesures d'activité, d'en déterminer sa concentration et de vérifier les variations suivant le pH et la température.

Le taux de lyse supposé pour le lac de Falemprise, varie entre 0,002 et 0,058 j^{-1} . Ces résultats assez faibles peuvent révéler la présence d'une population algale en place en très bonne santé. Cependant, ces résultats peuvent aussi être révélateurs d'une sous-estimation du taux de lyse. Les valeurs de production bactérienne varient entre 0,034 $\mu g C/l.h$, le 2 mai et 1,194 $\mu g C/l.h$, le 20 juin. Nous pensons qu'une sous-estimation est possible à ce niveau ; en effet, les facteurs de conversion utilisés n'ont pas été établis pour ce lac. Ce sont cependant des valeurs déterminées pour un milieu eutrophe. Nous n'avons pas déterminé le pourcentage de contribution de la lyse phytoplanctonique à la demande en carbone par les bactéries, par manque de données. Il semble, néanmoins, que les bactéries profitent du carbone libéré par la lyse pour croître.

Le taux de lyse rencontré en Meuse à Tailfer fluctue entre 0,0007 et 0,0392 j^{-1} . La production bactérienne varie entre 0,65 $\mu g C/l.h$ et 1,72 $\mu g C/l.h$. Ces valeurs sont assez faibles comparées aux résultats obtenus en 2001 par Pirlot à Tailfer qui variaient entre 2 et 9,2 $\mu g C/l.h$. Les raisons de ces valeurs faibles restent incompréhensibles. Nous pouvons donner une valeur approximative du pourcentage moyen de contribution de la lyse aux flux de carbone vers les bactéries, qui serait de 20,9 %.

En conclusion de ce travail, nous pensons qu'il faut encore approfondir la mesure de la mortalité phytoplanctonique par la mesure de l'activité des estérases dissoutes. En plus des suggestions faites plus haut (détermination d'AEI/Chla pour différentes algues dans différents états physiologiques ; mesure de véritables témoins d'AED), il serait utile de travailler sur des cultures dans lesquelles il est possible de déterminer la mortalité, induite ou par sénescence, par des mesures indépendantes.

Liste des abréviations

AED	Activité estérasique dissoute (nmol fluorescéine.l ⁻¹ .h ⁻¹)
AED _(prod)	Taux de production de l'activité estérasique dissoute (nmol fluorescéine.l ⁻¹ .h ⁻¹)
AEI	Activité estérasique intracellulaire (nmol fluorescéine.l ⁻¹ .h ⁻¹)
C	Carbone
Chla	Chlorophylle <i>a</i> (μg.l ⁻¹)
FDA	Fluorescéine-diacétate (C ₂₄ H ₁₆ O ₇)
Hepes	N-(2-hydroxyéthyl) piperazine-N'-(2-éthanesulfonate) (C ₈ H ₁₇ N ₂ O ₄ SNa).
HNF	Nanoflagellés hétérotrophes
I	Intensité lumineuse (μE.m ⁻² .s ⁻¹)
I _k	Intensité lumineuse au seuil de la saturation (μE.m ⁻² .s ⁻¹)
k	Coefficient d'atténuation vertical de la lumière (m ⁻¹)
Na ₂ EDTA	Acide éthyldiaminetétraacétique sodique (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ Na ₂ O ₈ . 2H ₂ O)
MOD	Matière organique dissoute
PBJ	Production journalière brute (mg C.m ⁻² .j ⁻¹)
P _{max}	Taux de photosynthèse à saturation (mg C.(mg Chla) ⁻¹ .h ⁻¹)
T _{0.5}	Temps de demi-vie des estérases (h)
μ _(perte) AED	Taux de perte d'activité estérasique dissoute (h ⁻¹)

Références Bibliographiques

Agusti S., Satta M.P., Mura M.P. & Benavent E., 1998. Dissolved esterase activity as a tracer of phytoplankton lysis : evidence of high phytoplankton lysis rates in the northwestern Mediterranean. *Limnol. Oceanogr.*, 43(8) : 1836-1849

Agusti S. & Duarte C., 2000. Strong seasonality in phytoplankton cell lysis in the NW Mediterranean littoral. *Limnol. Oceanogr.*, 45(4) : 940-947

Agusti S. & Duarte C., 2002. Addressing uncertainties in the assessment of phytoplankton lysis rates in the sea. *Limnol. Oceanogr.*, 47(3), 921-924

Antoine S., 2001. Etude de la boucle microbienne au sein du plancton fluvial : la lyse phytoplanktonique. Mémoire de licence. Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix Namur, 67p

Azam F., Fenchel T., Field J.G., Gray J.S., Meyer L.A. & Thingstad F., 1983. The ecological role of water column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10 : 257-263

Azam F. & Fuhrman J.A., 1982. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters : evolution and field results. *Mar. Biol.*, 66 : 109-120

Baines S.B. & Pace M.L. 1991. The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria : patterns across marine and freshwater systems. *Limnol. Oceanogr.*, 36 : 1078-1090

Berges J.A. & Falkowski P.G., 1998. Physiological stress and cell death in marine phytoplankton : Induction of proteases in response to nitrogen or light limitation. *Limnol. Oceanogr.*, 43(1), 129-135

Billen G., Servais P. & Becquevort S., 1990. Dynamics of bacterioplankton in oligotrophic and eutrophic aquatic environments : bottom-up or top-down control ?. *Hydrobiol.*, 207 : 37-42

Bjørnsen P.K., 1988. Phytoplankton exudation of organic matter : why do healthy cells do it? *Limnol. Oceanogr.*, 33 : 151-154

Bratbak G. & Thingstad T.F., 1985. Phytoplankton-bacteria interactions : an apparent paradox? Analysis of model system with both competition and commensalism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 25 : 23-30

Bratbak G., Heldal M., Norland S. & Thingstad T.F., 1990. Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56 : 1400-1405

Bratbak G., Egge J.K. & Heldal M., 1993. Viral Mortality of the marine alga *Emiliana huxleyi* (Haptophyceae) and determination of algal blooms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 93 : 39-48

Brussaard C.P.D., Riegman R., Noordeloos A.A.M., Cadee G.C., Witte H., Kop A.J., Nieuwland G., Van Duyl F.C., Bak R.P.M., 1995. Effects of grazing, sedimentation and phytoplankton cell lysis on the structure of coastal pelagic food web. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 123 : 259-271

Brussaard C.P.D., Kempers R.S., Kop A.J., Riegman R. & Heldal M., 1996. Virus-like particules in a summer bloom of *Emiliana huxleyi* in the North Sea. *Aquat. Microb. Ecol.*, 10 : 105-113

Brussaard C.P.D., Riegman R. & van Bleijswijk J.D.L., 2002. The use of dissolved esterase activity as a tracer of phytoplankton lysis. *Limnol. Oceanogr.*, 47(3) : 916-920

Chróst R.J., 1991. Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes, 1-317. In R.J. Chróst [ed.], *Microbial enzymes in aquatic environments*. Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience

Cole J.J., Findlay S. & Pace M.L., 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 43 : 1-10

Dehavay P., 1981. Détermination de la situation trophique des lacs du complexe des barrages de l'Eau d'Heure en 1981. Institut d'Hygiène et d'Épidémiologie, 143 p

Descy J.P., 1987. Phytoplankton composition and dynamics in the river Meuse (Belgium). *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 78 : 225-245

Descy J.P., Servais P., Smits J.S., Billen G. & Everbecq E., 1987. Phytoplankton biomass and production in the river Meuse (Belgium). *Wat. Res.*, 21 : 1557-1566

Descy J.P., 1992. Eutrophication in the river Meuse. In : *Eutrophication : research and application to water supply*. D.W. Suttcliffe and J.G. Jones (Eds), *Freshwater Biological Association*, Ambleside, 132-142

Descy J.P., Higgins H.W., Mackey DJ., Hurley J.P. & Frost T.M., 2000. Pigment ratios and phytoplankton assessment in northern Wisconsin lakes. *J. Phycol.*, 36 : 274-286

Descy J.P., Leporcq B., Viroux L., François C. & Servais P., 2002. Phytoplankton production, exudation and bacterial reassimilation in the River Meuse (Belgium). *Journal of Plankton Research*, vol. 24, n° 3, 161-166

Duarte C.M., Agusti S., Satta M.P., VAQUE D., 1998. Partitioning particulate light absorption : A budget for a Mediterranean bay. *Limnol. Oceanogr.*, 43(2) : 236-244

Everbecq E., Gosselain V., Viroux L. & Descy J.P., 2001. POTAMON : a dynamic model for predicting phytoplankton composition and biomass in lowland rivers. *Water Research*, 35 (4) : 901-912

Feuillade M., Dufour P. & Feuillade J., 1988. Organic carbon release by phytoplankton and bacterial reassimilation. *Schweiz. Z. Hydrol.*, 50 : 115-135

Fogg G.E., 1983. The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Botanica mar.*, 26 : 3-14

François C., 2000. Etude de la boucle microbienne au sein du plancton fluvial : excrétion phytoplanctonique et réassimilation bactérienne. Mémoire de licence. Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix Namur, 83p

Fuhrman J.A. & Azam F., 1980. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia Antartica and California. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39 : 1085-1095

Fuhrman J.A. & Azam F., 1982. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters : evaluation and field results. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 100 : 197-206

Gasol J.M. & Vaque D., 1993. Lack of coupling between heterotrophic nanoflagellates and bacteria : General phenomenon across aquatic systems ? *Limnol. Oceanogr.*, 38(3) : 657-665

Garnier J. & Lavandier P., 1995. Le cycle du carbone – in Pourriot R. & Meybeck M., 1995. *Limnologie générale*, Masson, Paris, 688-704

Gosselain V., Descy J.P. & Everbecq E., 1994. The phytoplankton community of the river Meuse, Belgium : seasonal dynamics (year 1992) and the possible incidence of zooplankton grazing. *Hydrobiol.*, 289 : 179-191

Gosselain V., 1998. Phytoplankton de la Meuse et de la Moselle et impact du broutage par le zooplancton. Thèse de doctorat, Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix, Namur, 459p

Hellebust J.A., 1965. Excretion of some compounds by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 10 : 192-206

Holfeld H., 2000. Infection of the single-celled diatom *Stephanodiscus alpinus* by the chytrid *Zygorhizidium* : Parasite distribution within host population, changes in host cell size, and host-parasite size relationship. *Limnol. Oceanogr.*, 45(6) : 1440-1444

Jassby A.D. & Goldman C.R., 1974. Loss rates from a lake phytoplankton community. *Limnol. Oceanogr.*, 19 : 618-627

Kirchman D., K'Ness F. & Hodson R., 1985. Leucine incorporation and its potential as a measure of protein synthesis by bacteria in natural aquatic systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49 : 599-607

Lampert W., 1978. Release of dissolved organic carbon by grazing zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 23 : 831-834

Lancelot C., 1983. Factors affecting phytoplankton extracellular release in the Southern Bight of the North Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 12 : 179-186

Lavandier P., 1990. Dynamics of bacterioplankton in a mesotrophic French reservoir (Pareloup). *Hydrobiol.*, 207 : 79-86

Lorenzen C.J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments. Spectrometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12 : 343-346

Mackey M.D., Mackey D.J., Higgins H.W. & Wright, S.W., 1996. CHEMTAX – a program for estimating class abundances from chemical markers : application to HPLC measurements of phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 144 : 265-283

Mague T.H., Friberg E., Hughes D.J. & Morris I., 1980. Extracellular release of carbon by marine phytoplankton : a physiological approach. *Limnol. Oceanogr.*, 25 : 262-279

Ministère wallon de l'Équipement et des Transports (MET), juin 1997. Quand les barrages prennent ... l'eau d'Heure. *Collection technique*, 7 : 1-68

Péchar L., 1987. The use of acetone : methanol mixture for extraction and spectrophotometric determination of chlorophyll a in phytoplankton. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 78, 1, *Algol Stud.* 46, 588p

Pirlot S., 2001. Etude de la boucle microbienne au sein du plancton fluvial : mortalité bactérienne, grazing par le protozooplancton. Mémoire de licence. Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix Namur, 77p

Pomeroy L.R., 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. *BioSci.*, 24 : 499-504

Pomeroy L.R. & Wiebe W.J., 1988. Energetics of microbial food web. *Hydrobiol.*, 159 : 7-8

Pourriot R., Meybeck M., 1995. Limnologie générale. Collection d'écologie. URA 1367, université de Paris VI, pp 254 – 295

Reynolds C.S., 1984. The Ecology of Freshwater Phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge, 384p

Rotman B. & Papermaster B.W., 1965. Membrane properties of living mammalian cell as studied by enzymatic hydrolysis of fluorogenic esters. *Biochemistry*, 55 : 134-141

Sell A.F. & Overbeck J., 1992. Exudates : phytoplankton-bacterioplankton interactions in Plußsee. *J. Plankton Res.*, 14 : 1199-1215

Servais P., 1987. Etude de la dégradation de la matière organique par les bactéries hétérotrophes en rivière. Thèse de doctorat (première et deuxième partie). Université libre de Bruxelles, 271p

Servais P., Billen G., Martinez J. & Vives-Rego J., 1989. Estimating bacterial mortality by the disappearance of ³H-labeled intracellular DNA. *Fems Microb. Ecol.*, 62 : 119-126

Servais P. & Garnier J., 1993. Contribution of heterotrophic bacterial production to the carbon budget of the river Seine (France). *Microbial. Ecology*, 25 : 19-33

Servais P., Gosselain V., Joachim-Justo C., Becquevort S., Thomé J.-P. & Descy J.-P., 2000. Trophic relationships among planktonic organisms in the river Meuse (Belgium) : a carbon budget. *Arch. Hydrobiol.*, 149, 4 : 625-653

Sharp J.H., 1977. Excretion of organic matter by marine phytoplankton : do healthy cells do it? *Limnol. Oceanogr.*, 22 : 381-399

Sherr B.F., Sherr E.B. & Albright L.J., 1987. Bacteria : sink or link. *Nature*, 235 : 88-89

Søndergaard M. & Schierup H.H., 1982. Release of extracellular organic carbon during a diatom bloom in lake Mossø : molecular weight fractionation. *Freshwat. Biol.*, 12 : 313-320

Steele J.H., 1974. Spatial heterogeneity and population stability. *Nature*, 248 : 83

Stone L., 1990. Phytoplankton-bacteria-protozoa interactions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 64 : 131-138

Sundh I. & Bell R.T., 1992. Extracellular dissolved organic carbon released from phytoplankton as a source of carbon for heterotrophic bacteria in lakes of different humic content. *Hydrobiologica*, 229 : 93-106

Sundh I., 1992. Biochemical composition of dissolved organic carbon derived from phytoplankton and used by heterotrophic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58 : 2938-2947

Van Boekel W.H.M., Hansen F.C., Riegman R. & Bak R.P.M., 1992. Lysis-induced decline of a *Phaeocystis* spring bloom and coupling with the microbial food web. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 81 : 269-276

Van Donk E., 1983. The role of fungal parasites in the phytoplankton succession. Provincial Waterboard of Utrecht, The Netherlands

Vollenweider R.A., 1965. Calculation models of photosynthesis-depth curves and some implication regarding day rate estimates in primary production measurements. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 18 (suppl.) : 425-457

Walsh J.J., 1983. Death in the sea : Enigmatic phytoplankton losses. *Prog. Oceanogr.*, 12 : 1-86

Wetzel R.J., 1983. *Limnology* (Second edition), Saunders College Publishing, 858p

Widholm J.M., 1972. The use of fluorescein diacetate and phenosafranine for determining viability of cultured plant cells. *Stain Technol.*, 47 : 189-194

Williams P.J.LeB., 1981. Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the planktonic food web. *Kieler Meeresforsch. Sonderh.*, 5 : 1-28

Wood M., Rai H., Garnier J., Kairesalo T., Gresens S., Orive E. & Ravail B., 1992. Practical approaches to algal excretion. *Mar. Microbiol. Food Webs*, 6 : 21-38

Wright S. W., Jeffrey S. W., Mantoura R. F. C., Llewellyn C. A., Bjornland T., Repeta D. & Welschmeyer N., 1991. Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids in marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 77, 183-196.

Annexes

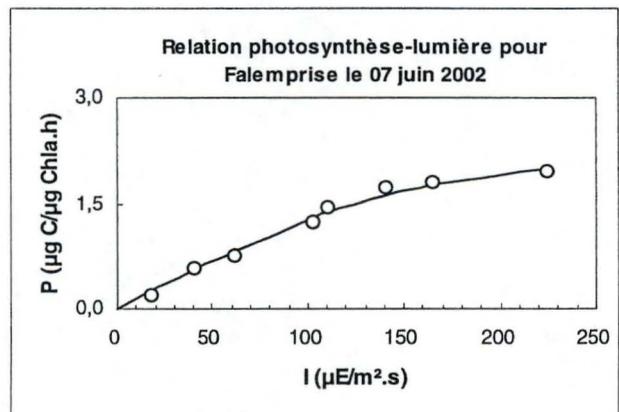
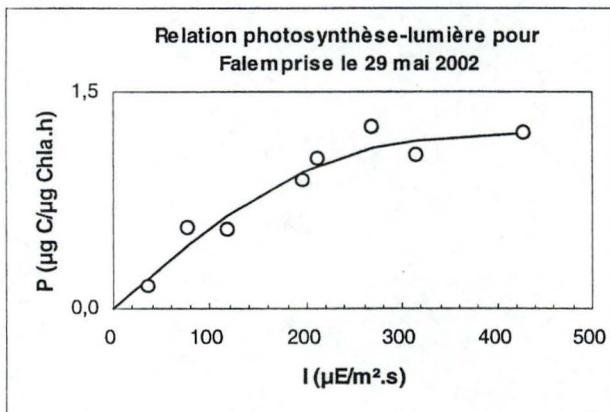
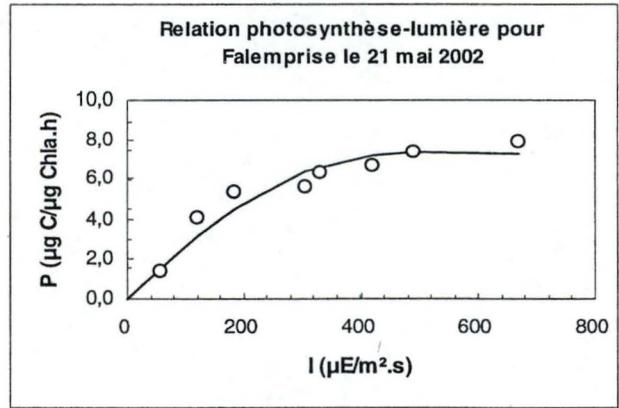
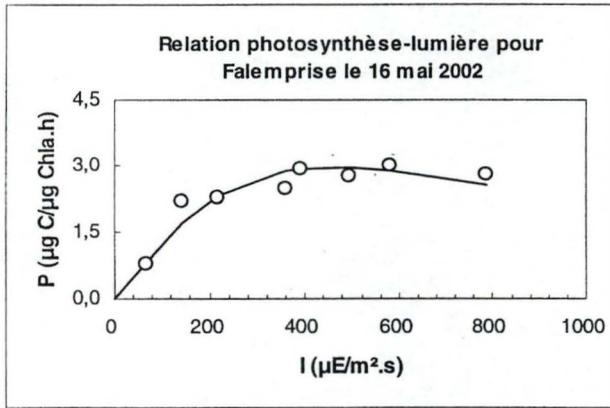
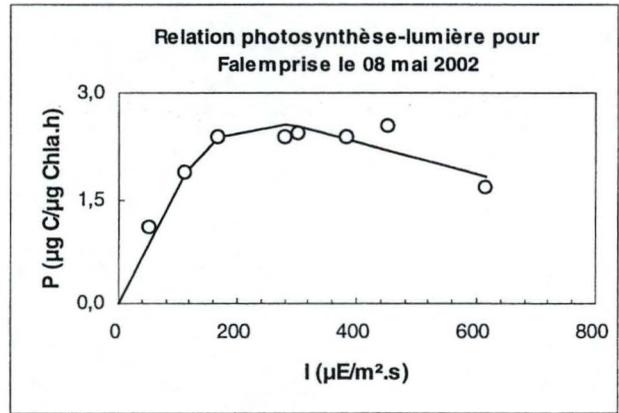
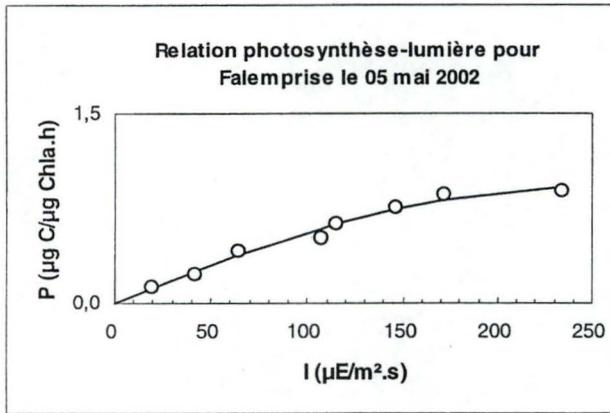
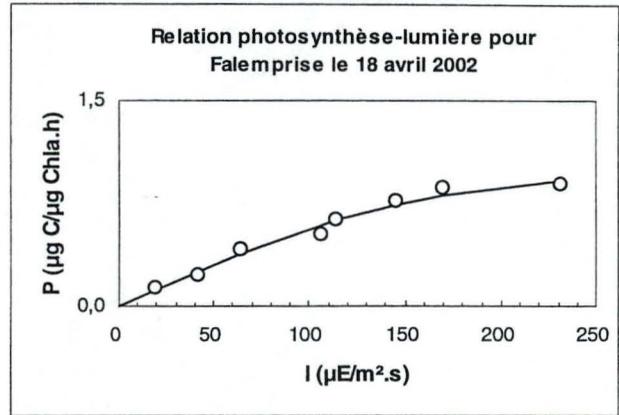
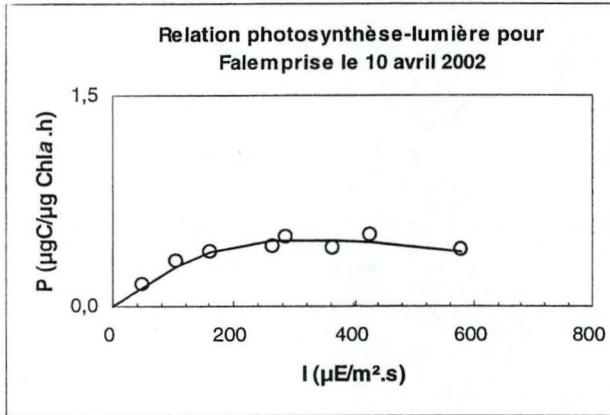
Annexe 1 : Données physico-chimique de Falemprise du 13 mars au 27 juin 2002

DATE	pH (unités pH)	O2 (mg/l)	O2 (%)	Température (°C)
13/3/02	8,05	10,8	97,5	8
21/3/02	7,71	10,9	94,5	10,1
27/3/02	7,91	12,39	106,4	8,58
4/4/02	8,49	19	177	12,1
10/4/02	8,92	19,02	170	10,32
18/4/02	8,73	17,74	160	10,76
16/5/02	8,58	9,7	104,2	18,8
22/5/02	9,24	15,7	192,8	19,8
29/5/02	8,87	16,8	173,7	16,9
7/6/02	8,92	13,7	147,7	18,97
13/6/02	8,28	10,2	107	17,2
20/6/02	8,71	12,2	139,8	21,61
27/6/02	8,85	13,16	152,6	22,66

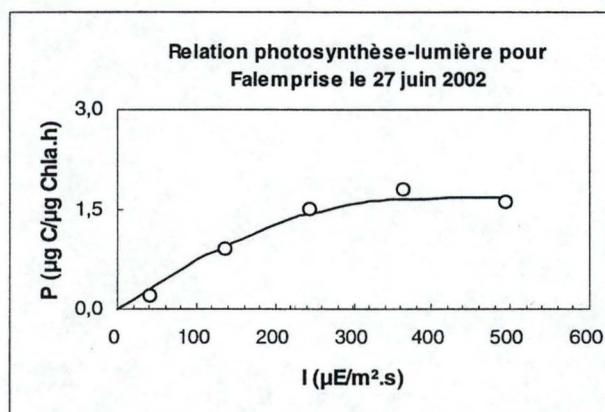
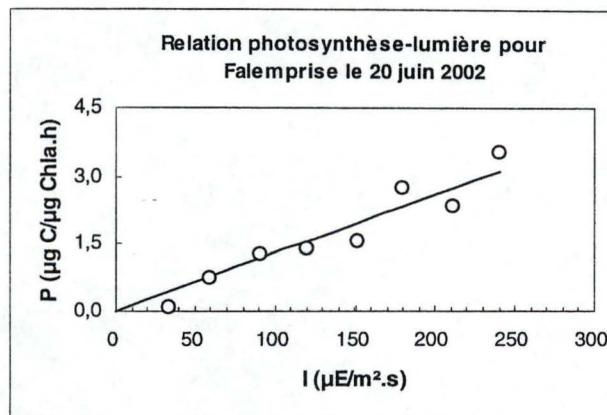
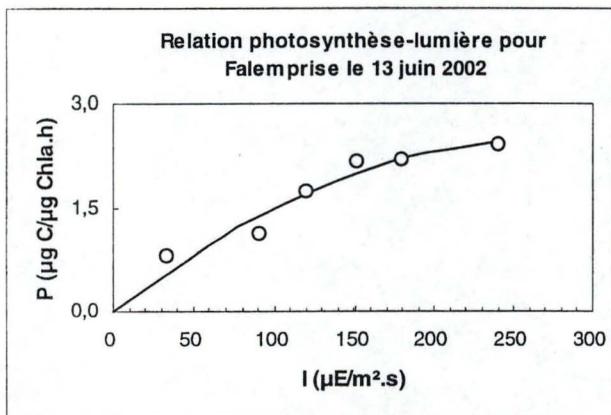
Annexe 2 : Concentration en nutriments de Falemprise du 13 mars au 29 mai 2002

Date	Nitrates (mg N/l)	Nitrites (µg N/l)	Ammonium (mg N/l)	Silice (mg Si/l)	SRP (µg P/l)
13/03/02	2,43	23,86	0,15	2,31	23,96
21/03/02	1,68	10,89	0,11	2,62	75,18
27/03/02	1,55	19,90	0,04	2,82	25,98
04/04/02	0,45	17,67	0,05	1,37	20,28
10/04/02	/	11,52	0,06	1,28	1,40
17/04/02	2,42	18,49	0,10	1,66	13,18
16/05/02	0,51	33,81	0,02	1,83	26,81
22/05/02	0,45	24,57	0,08	1,61	12,04
29/05/02	0,32	25,08	0,04	1,97	21,97

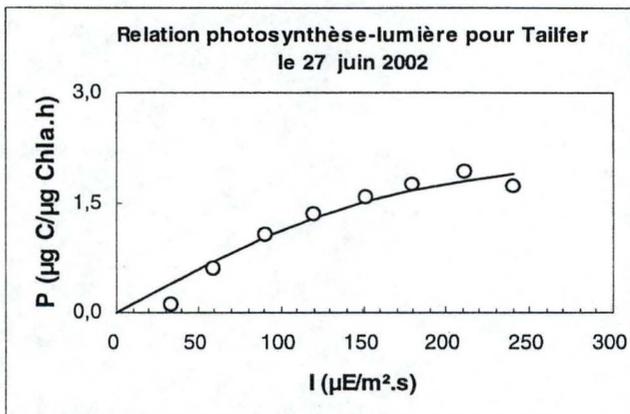
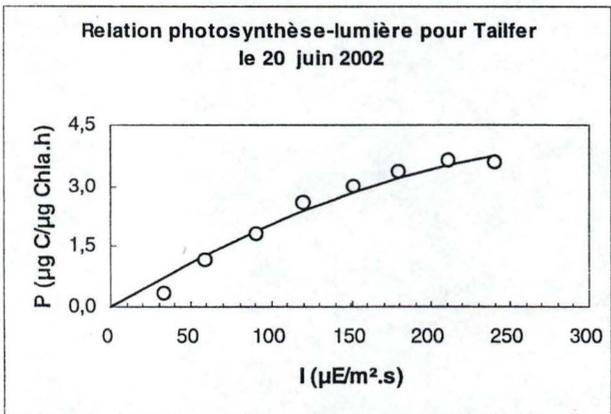
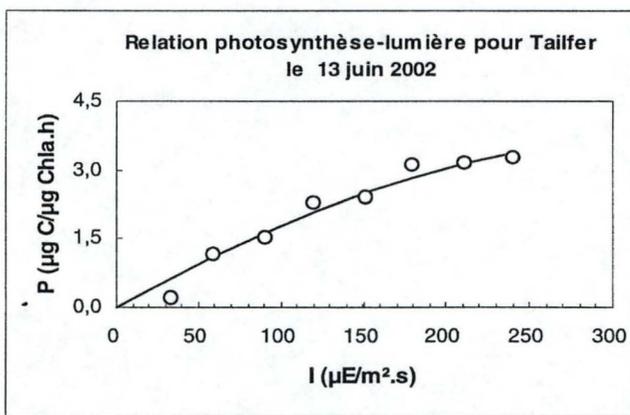
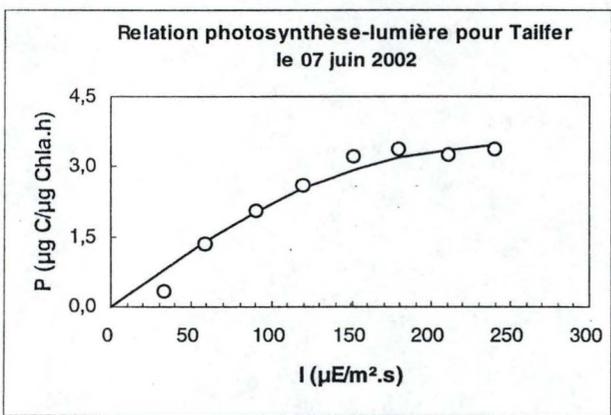
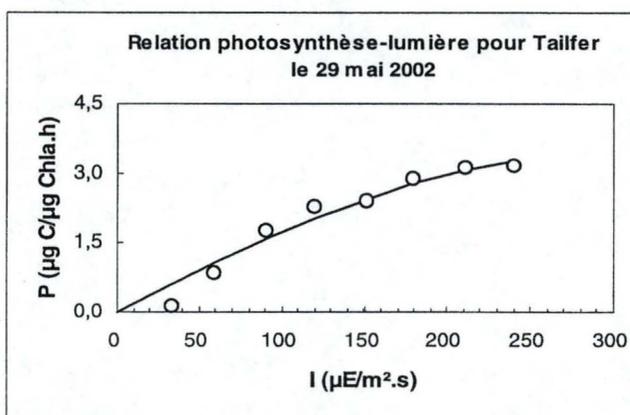
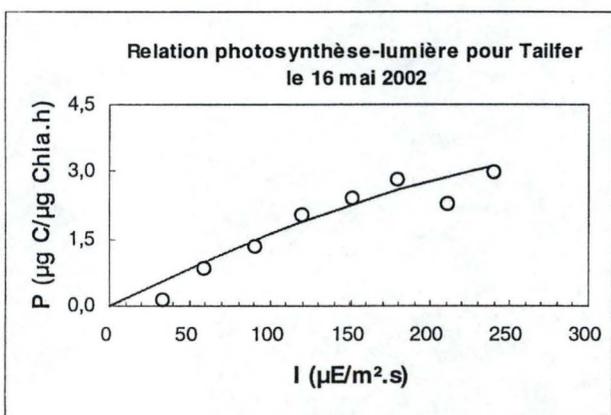
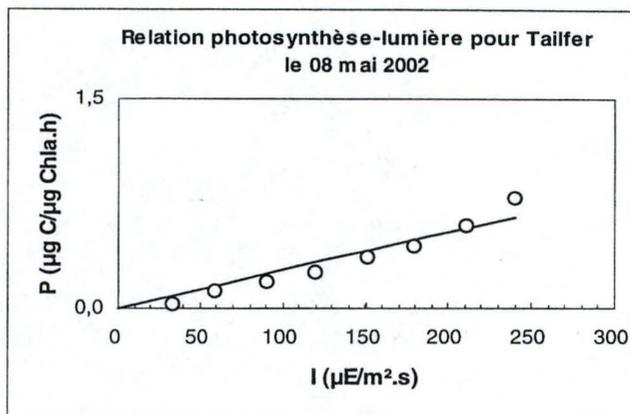
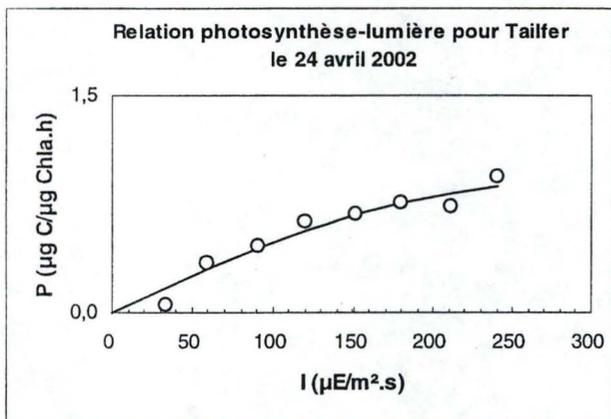
Annexe 3 : Relation photosynthèse – lumière pour Falemprise du 10 avril au 27 juin 2002



Annexe 3 (suite) : Relation photosynthèse – lumière pour Falemprise du 10 avril au 27 juin 2002



Annexe 4 : Relation photosynthèse – lumière pour Tailfer du 24 avril au 27 juin 2002



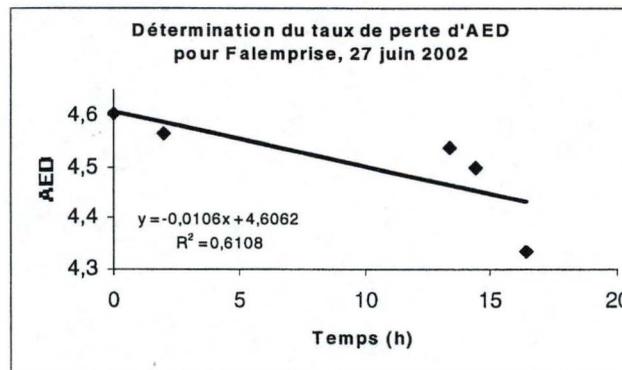
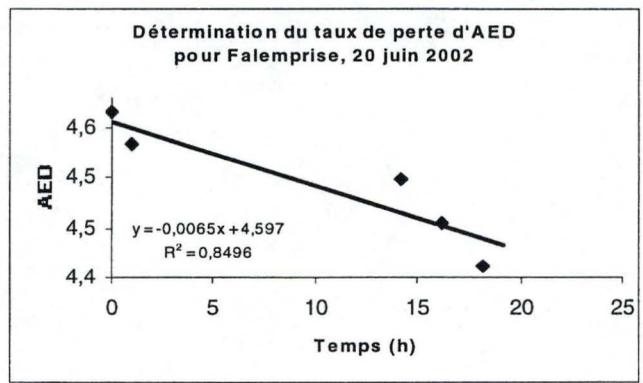
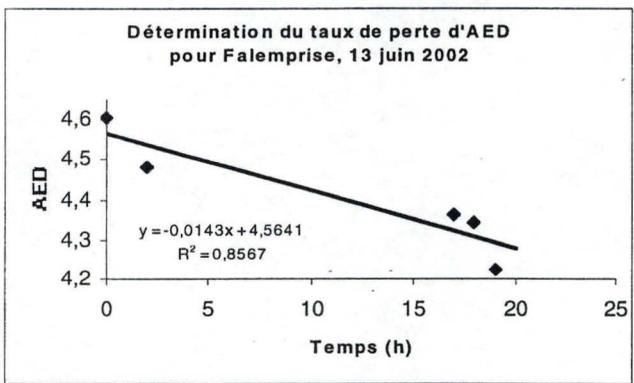
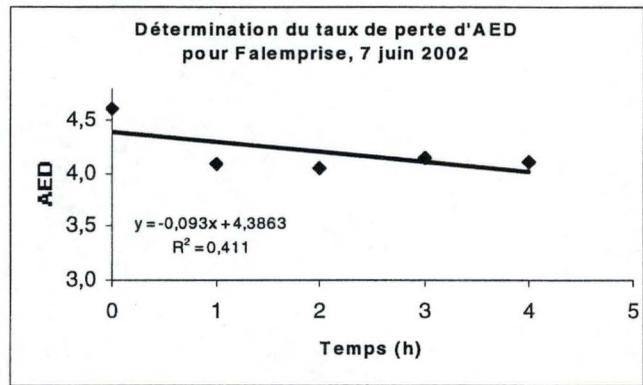
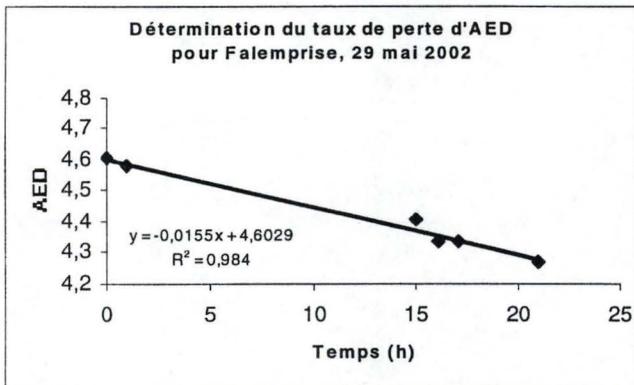
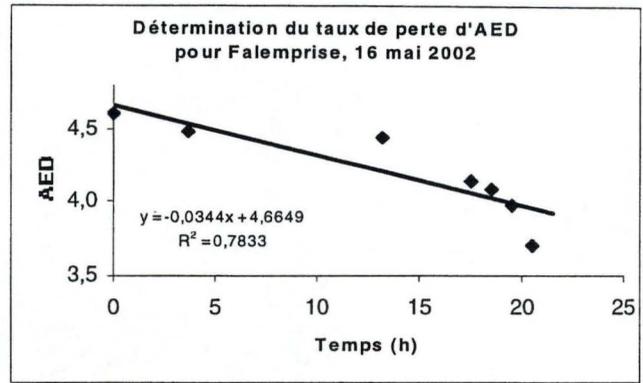
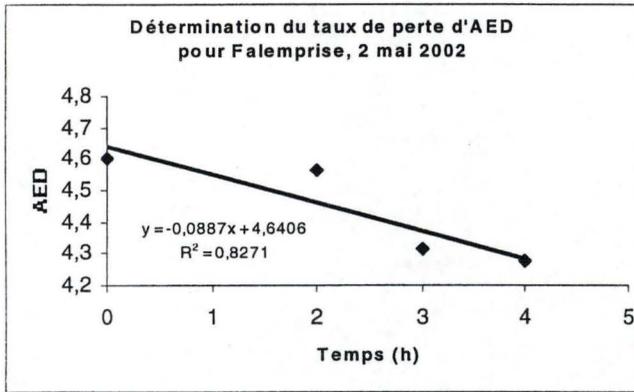
Annexe 5 : Données relative à Falmeprise du 10 avril au 27 juin 2002

Date	Chla ($\mu\text{g/l}$)	k (/m)	lo ($\mu\text{E/m}^2.\text{s}$)	Pmax (mgC/mgChla.h)	lk ($\mu\text{E/m}^2.\text{s}$)	Température ($^{\circ}\text{C}$)	PPJ ($\text{mgC/m}^2.\text{j}$)	Pbact ($\mu\text{gC/l.h}$)	Pbact ($\text{mgC/m}^2.\text{j}$)	alpha	lo/k
10/04/02	166,7	3,0	210	0,48	154,22	20	508	/	/	0,072	70,92
18/04/02	112,5	2,3	145	0,95	152,89	10,76	601,0	0,54	25,72	0,144	63,85
02/05/02	17,4	2,1	132	0,44	185,16	10,8	35,5	0,03	1,65	0,055	61,74
08/05/02	58	2,0	429	2,54	127,71	12,49	1947,6	0,59	28,24	0,461	216,01
16/05/02	152,1	2,0	515	2,94	228,07	18,8	4164,7	0,20	9,71	0,298	263,92
21/05/02	72,5	1,9	465	7,46	273,62	19,8	5489,7	0,15	7,12	0,631	243,71
29/05/02	125,9	1,9	310	1,21	204,64	16,9	1101,9	0,03	1,37	0,137	159,46
07/06/02	175,1	2,9	110	2,08	147,91	18,97	1348,3	0,96	46,31	0,326	38,43
13/06/02	228,5	2,7	110	2,51	151,87	17,2	2235,0	0,23	11,15	0,382	40,38
20/06/02	48,7	/	156	/	/	/	2378,0	1,19	57,31	/	/
27/06/02	20,3	2,2	341	1,70	223,81	22,66	285,9	0,58	27,92	0,176	152,23

Annexe 6 : Données relatives à Tailfer du 24 avril au 27 juin 2002

Date	Chla ($\mu\text{g/l}$)	k (m)	lo ($\mu\text{E/m}^2.\text{s}$)	Pmax (mgC/mgChla.h)	lk ($\mu\text{E/m}^2.\text{s}$)	Température ($^{\circ}\text{C}$)	PPJ ($\text{mgC/m}^2.\text{j}$)	Pbact ($\mu\text{gC/l.h}$)	Pbact ($\text{mgC/m}^2.\text{j}$)	alpha	lo/k
24/04/02	61,5	1,5	308	0,94	181,46	12	736,4	0,70	65,59	0,119	203,70
8/05/02	56,1	/	/	/	/	20	/	0,66	61,46	/	/
16/05/02	90,2	1,9	515	3,76	224,72	18,7	4260,4	1,12	105,22	0,387	274,67
29/05/02	143,8	1,9	310	3,67	199,60	17	5157,4	1,35	126,27	0,426	165,33
7/06/02	166,5	2,3	110	3,51	142,28	17,65	2747,8	1,72	161,07	0,571	47,13
13/06/02	82,4	1,8	110	3,89	208,88	18	1432,9	0,44	40,86	0,431	60,87
20/06/02	58,6	1,6	156	4,12	188,39	21	1832,2	1,21	113,28	0,507	99,17
27/06/02	93,4	2,2	341	1,97	163,81	22	1870,2	2,46	229,81	0,278	152,71

Annexe 7 : Détermination du taux de perte d'AED pour Falemprise du 2 mai au 27 juin 2002



Annexe 8 : Détermination du taux de perte d'AED pour Tailfer du 24 avril au 27 juin 2002

