

## THESIS / THÈSE

### MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES DES ORGANISMES ET ÉCOLOGIE

**Le picoplancton du lac Tanganyika : comparaison des milieux côtier et pélagique.**

Thill, Sophie

*Award date:*  
2007

[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**

**LE PICOPLANCTON DU LAC TANGANYIKA :  
COMPARAISON DES MILIEUX CÔTIER ET PELAGIQUE**

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

Sophie THILL

Août 2007

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>

## Le picoplancton du lac Tanganyika : comparaison des milieux côtier et pélagique

THILL Sophie

### Résumé

Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes surtout intéressés à la comparaison du picophytoplancton entre la zone pélagique et la zone littorale du Lac Tanganyika. Nous avons réalisé des estimations de l'abondance, du biovolume et de la biomasse du picophytoplancton et des bactéries, ainsi que des mesures de production primaire totale, production primaire fractionnée et de production bactérienne. Enfin une approche moléculaire a été menée, afin d'aborder la diversité génétique des picocyanobactéries dans ces deux milieux.

Notre étude nous a permis de montrer que les abondances cellulaires du picoplancton photosynthétique et hétérotrophe, sont supérieures en milieu côtier. En effet, l'abondance bactérienne varie avec l'abondance des picocyanobactéries, dont la production de carbone organique dissous alimente les bactéries. Elle nous a également permis de montrer que le picophytoplancton contribuait fortement à la biomasse phytoplanctonique totale (60 %) et à la production primaire totale (60 – 70 %) dans les deux milieux étudiés. Les estimations des paramètres de la photosynthèse met en évidence une adaptation photosynthétique du phytoplancton soumis à de grandes intensités lumineuses en zone littorale. En effet, nous obtenons des efficacités photosynthétiques moyennes de  $0,20 \text{ nmol C (mg chl } a)^{-1} (\text{E m}^{-2})^{-1}$  en milieu côtier et de  $0,49 \text{ nmol C (mg chl } a)^{-1} (\text{E m}^{-2})^{-1}$  en milieu pélagique. En ce qui concerne la production primaire, nous avons obtenu des valeurs moyennes  $312 \text{ mg C m}^{-2} \text{ j}^{-1}$  pour la zone pélagique et de  $208 \text{ mg C m}^{-2} \text{ j}^{-1}$  pour la zone littorale. Les mesures de production bactérienne sont corrélées aux mesures de production primaire en milieu côtier. L'approche génétique a permis d'identifier différentes souches de *Synechococcus* étroitement apparentées à des souches connues d'eau douce et saumâtres, et de montrer qu'il n'y pas de différenciation apparente de ces souches entre les milieux pélagique et côtier au Lac Tanganyika.

Mémoire de licence en Sciences biologiques

Août 2007

Promoteur : Pr. J.-P. Descy

Par ces quelques lignes, je souhaiterais remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Tout d'abord, je voudrais remercier le Pr. Jean-Pierre Descy pour m'avoir, d'une part, accueillie au sein de son unité de recherche et, d'autre part, pour m'avoir permis d'effectuer ce séjour inoubliable au bord du lac Tanganyika – lac dont nous avons si souvent entendu parler.

Mes remerciements s'adresseront ensuite à Stéphane et Anne-Laure.

Stéphane, je tenais à te remercier pour tes nombreuses explications, tes précieux conseils en laboratoire, ta patience, tes réponses à toutes mes questions ainsi qu'à tous mes mails au moindre problème, tes nombreuses corrections, tes encouragements et pour finir tes nombreuses tentatives pour nous faire déstresser (même si cela n'a pas toujours été évident).

Anne-Laure, je tenais également à te remercier pour tes nombreux conseils sur le terrain mais aussi pour nous avoir fait découvrir ce petit paradis terrestre.

Je n'oublierai bien évidemment pas les personnes rencontrées sur le continent africain !

Je tiens à remercier les membres de l'équipe du département des pêches de Mpulungu pour nous avoir accueillies dans leur équipe. Merci particulièrement à Dany Sinyenza pour son accueil au laboratoire ainsi qu'à Ruben Chapola pour les quelques leçons de Bemba !

Merci également à Dinesh et Charity pour leur accueil chaleureux ; à Marino pour les moments de détente ainsi que les cours de Bemba ; à Tony, Elise, John et Craig pour les nombreuses soirées « guitare », les parties de « 21 » et leur joie de vivre débordante et enfin à Shoen et Renée pour la journée passée à leur lodge.

Merci au « very good friend of mine » pour nous avoir fait découvrir, par de longues promenades, les joyaux de sa petite ville !

Je voudrais ensuite remercier les membres de l'URBO : Hugo Sarmiento pour toutes ses explications dans le domaine de la cytométrie de flux, Bruno Leporcq pour ses nombreux conseils en laboratoire, Lise-Marie Pigneur pour son aide quant aux techniques moléculaires sans oublier François Darchambeau, Claude Fauville et Laurent Viroux pour l'accueil et la bonne ambiance du bureau. Merci également à Nath pour ses corrections, sa bonne humeur quotidienne, son soutien et les nombreux temps de midi agrémentés de ses questions ;-).

Merci également à Doro, Gwen, Hélène, Christelle ainsi qu'aux étudiants URBO (Mel, Kath, Hélène, Mél, Noé, Cédric, Bertrand, Andréa et Ivan) pour les soirées passées ensemble, les fous rires, les délires, ... au cours de ces quatre années d'étude. Merci tout particulièrement à Mel pour tous les bons moments passés ensemble lors des trois dernières années et également pour notre séjour de l'autre côté de l'équateur. Ce séjour n'aurait pas été ce qu'il a été sans elle ;-).

Merci également à Marie, Lorianne, Manon, Eloïse, Fanélie, Clarisse, Nadège, Jef, Kiki et tous les autres pour ces agréables années passées ensemble en kot.

Pour finir, je tiens à remercier ma famille sans laquelle ces études n'auraient pas été possibles. Merci de m'avoir encouragée, soutenue, supportée et surtout de m'avoir toujours laissé faire les études que je souhaitais.

A tous, un tout grand merci ...

# Table des matières

## **INTRODUCTION**

<b>1. Le lac Tanganyika</b>	<b>1</b>
<b>2. Les caractéristiques physico-chimiques</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Physico-chimie de base</b>	<b>2</b>
2.1.1. La transparence de l'eau	2
2.1.2. L'oxygène dissous	2
<b>2.1.3. Les nutriments</b>	<b>2</b>
2.1.3.1. <i>Azote</i>	3
2.1.3.2. <i>Phosphore</i>	4
2.1.3.3. <i>Silice</i>	4
2.1.4. Les ions principaux	4
2.1.5. Le pH	4
2.1.6. La conductivité	4
<b>2.2. Hydrodynamique</b>	<b>5</b>
2.2.1. La stratification	5
2.2.2. Les phénomènes d'upwellings et les vagues internes	6
<b>3. Les caractéristiques biologiques</b>	<b>8</b>
<b>3.1. Le phytoplancton</b>	<b>8</b>
3.1.1. Composition en espèces	8
3.1.2. Distributions spatiale et temporelle	8
3.1.3. Biomasse phytoplanctonique	9
3.1.4. Importance du picophytoplancton	9
3.1.5. Diversité des picocyanobactéries	12
<b>3.2. Le réseau trophique</b>	<b>13</b>
3.2.1. La production primaire	14

<b>3.2.1.1. Production particulaire</b>	<b>14</b>
<b>3.2.1.2. Production dissoute</b>	<b>16</b>
<b>3.2.2. La production bactérienne</b>	<b>16</b>
<b>3.2.3. La boucle microbienne</b>	<b>18</b>
<b>4. Objectifs du travail</b>	<b>20</b>

## **MATERIEL ET METHODES**

<b>1. Site d'échantillonnage</b>	<b>21</b>
<b>2. Analyses physico-chimiques</b>	<b>21</b>
2.1. Température et oxygène	21
2.2. pH et conductivité	21
2.3. Transparence de l'eau	21
2.4. Alcalinité	22
2.5. Nutriments	22
2.5.1. Azote	22
2.5.2. Orthophosphates	23
2.5.3. Silice	23
2.6. Dosage des CNP (Carbone, azote, phosphore)	23
<b>3. Biomasse phytoplanctonique</b>	<b>23</b>
3.1. Chlorophylle a totale	23
3.2. Chlorophylle a fractionnée	24
3.3. Dosage des pigments chlorophylliens et caroténoïdes en HPLC	24
3.3.1. Analyse en HPLC	24
3.3.2. Quantification de la biomasse des différentes classes algales	24
3.4. Abondance et biovolume des picocyanobactéries	24
3.4.1. Microscopie à épifluorescence	24
3.4.2. Cytométrie de flux	25
3.5. Production primaire	26
3.5.1. Calcul de l'assimilation du carbone	26
3.5.2. Calcul de la production primaire	27



<b>3.5.3. Calcul de la production brute journalière (PBJ)</b>	<b>27</b>
<b>3.6. Production primaire fractionnée</b>	<b>28</b>
<b>4. Abondance et production bactériennes</b>	<b>28</b>
<b>4.1. Abondance du bactérioplancton</b>	<b>28</b>
<b>4.1.1. Microscopie à épifluorescence</b>	<b>28</b>
<b>4.1.2. Cytométrie de flux</b>	<b>29</b>
<b>4.2. Production bactérienne</b>	<b>29</b>
<b>4.2.1. Calcul de l'assimilation de <sup>3</sup>H-Thymidine</b>	<b>29</b>
<b>4.2.2. Calcul de la production bactérienne</b>	<b>30</b>
<b>5. Diversité des picocyanobactéries</b>	<b>30</b>
<b>5.1. Extraction et purification d'ADN</b>	<b>30</b>
<b>5.1.1. Principe</b>	<b>30</b>
<b>5.1.2. Méthode</b>	<b>30</b>
<b>5.2. PCR (Polymerase Chain Reaction)</b>	<b>31</b>
<b>5.2.1. Principe</b>	<b>31</b>
<b>5.2.2. Méthode</b>	<b>31</b>
<b>5.3. Clonage</b>	<b>31</b>
<b>5.3.1. Principe</b>	<b>31</b>
<b>5.3.2. Méthode</b>	<b>32</b>
<b>5.4. Séquençage</b>	<b>32</b>
<b>5.5. Analyse des séquences</b>	<b>32</b>

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>1. Analyses physico-chimiques</b>	<b>33</b>
1.1. Température	33
1.2. Oxygène dissous	34
1.3. pH et conductivité	34
1.4. Transparence de l'eau et zone photique	36
1.5. Intensité lumineuse	36
1.6. Nutriments	37
1.6.1. Azote	37
1.6.2. Orthophosphates	37
1.6.3. Silice	39
1.7. Composition élémentaire	40
<b>2. Le phytoplancton</b>	<b>41</b>
2.1. Composition algale	41
2.2. Biomasse totale	42
2.3. Biomasse fractionnée et importance des picocyanobactéries	43
2.4. Abondance, biovolume et biomasse des picocyanobactéries	44
<b>3. Les différents paramètres de la photosynthèse</b>	<b>47</b>
<b>4. Production primaire fractionnée</b>	<b>48</b>
<b>5. Diversité des picocyanobactéries</b>	<b>48</b>
<b>6. Le bactérioplancton</b>	<b>49</b>
6.1. Abondance, biovolume et biomasse bactériens	49
6.2. Production bactérienne	51

**DISCUSSION GENERALE, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES**

**1. Discussion générale 53**

**2. Conclusions et perspectives 57**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 58**

# Introduction

# 1. Le lac Tanganyika

Le lac Tanganyika, formé au cours du Miocène, est le plus grand des lacs de la Vallée du Rift située en Afrique orientale. Il est situé entre 4 pays : le Congo, la Tanzanie, le Burundi et la Zambie (Fig. 1 ; Naithani *et al.*, 2003). C'est également le deuxième lac d'eau douce le plus large et le plus profond au monde après le lac Baïkal (Hutchinson, 1957, *in* Edmond *et al.*, 1993 ; Falkner *et al.*, 1991, *in* Edmond *et al.*, 1993) avec une longueur de 650 kilomètres et une largeur moyenne de 50 kilomètres (Coulter, 1991 ; Naithani *et al.*, 2003).

Ce grand lac méromictique, dont la surface se situe 773 mètres au-dessus du niveau de la mer, peut être divisé en deux bassins : le bassin Nord d'une profondeur maximale de 1310 mètres et le bassin Sud, le plus profond, avec 1470 mètres de profondeur (Coulter, 1991 ; O'Reilly *et al.*, 2003). Sa superficie est de 32600 km<sup>2</sup> (Coulter, 1991).

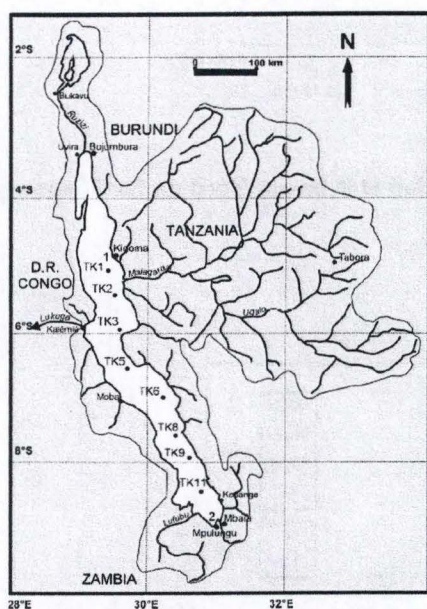


Figure 1 : Carte du lac Tanganyika (Stenuite *et al.*, 2007)

La rivière Lukuga, formée en 1876, est en fait le seul exutoire du lac Tanganyika (Degens *et al.*, 1971). A l'extrémité Nord, la Vallée du Rift est occupée par la plaine inondable de la rivière Ruzizi qui draine le lac Kivu. Du côté Est, où la rivière Malagarasi entre dans le lac, la topographie devient celle d'un delta marécageux (Edmond *et al.*, 1993). L'excès d'eau s'évacuant par la rivière Lukuga est, en moyenne, de 4,2 km<sup>3</sup> an<sup>-1</sup> soit un écoulement de 6 à 9 % de l'entrée totale, le reste s'évaporant (Coulter, 1991 ; Edmond *et al.*, 1993).

Les faibles concentrations en nutriments, les fortes transparences et les faibles densités phytoplanctoniques ont amené les scientifiques à classer le lac comme oligotrophe. Cependant, l'observation de blooms phytoplanctoniques, de mouvements de zooplancton et de poissons montre que certaines parties du lac sont apparemment capables de soutenir une forte productivité (Van Meel, 1987).

Peu après la découverte du lac par les Européens, il est devenu apparent que ce plan d'eau douce contenait une faune et une flore d'une grande importance biologique. En particulier, beaucoup d'espèces de poissons sont endémiques au lac. Ces particularités font du lac Tanganyika un des écosystèmes les plus fascinants au monde (Lowe-McConnell, 2003). Le lac Tanganyika est un des lacs pouvant supporter la plus grande production piscicole continentale (Hecky & Fee, 1981). Ses pêches hautement productives sont dominées par deux espèces de clupéidés planctonophages (*Stolothrissa tanganyicae* et *Limnothrissa miodon*) et une espèce piscivore (*Lates stappersi*). Ces trois espèces fournissent 25 à 40 % des protéines animales aux populations des pays avoisinants (O'Reilly *et al.*, 2003).

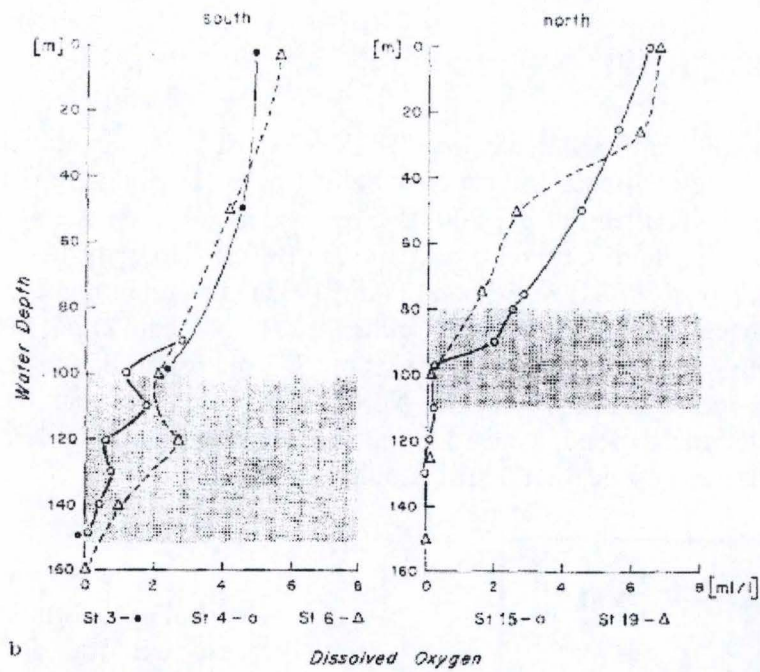


Figure 2 : Profils verticaux de l'oxygène dissous dans le bassin Sud et le bassin Nord du lac Tanganyika (Degens et al., 1971)

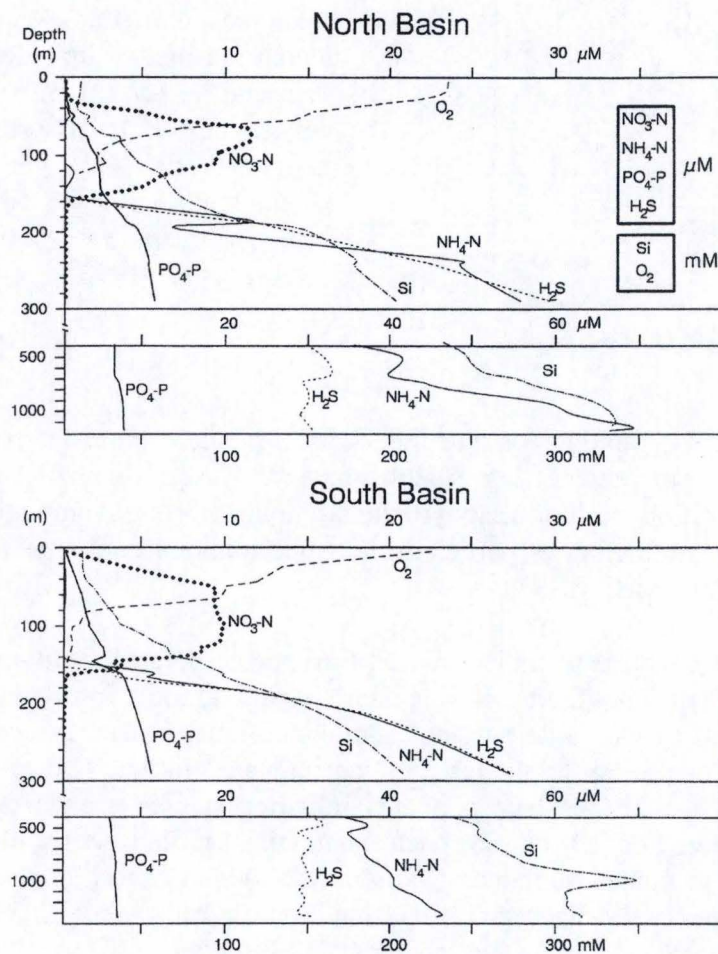


Figure 3 : Distribution des différents nutriments dans la colonne d'eau du lac Tanganyika (Coulter, 1991)

## 2. Les caractéristiques physico-chimiques

### 2.1. Physico-chimie de base

#### 2.1.1. La transparence de l'eau

Les eaux du lac Tanganyika ont pour caractéristique d'être très transparentes et donc d'influencer la production primaire en déterminant la hauteur de la colonne d'eau à l'intérieur de laquelle les algues sont capables d'effectuer la photosynthèse. Les fluctuations de la transparence des eaux observées ont été associées aux changements d'abondance du phytoplancton (Coulter, 1968 ; Hecky & Kling, 1981). La limite de la couche euphotique, définie comme la profondeur à laquelle 1 % de l'irradiance superficielle pourrait pénétrer, était d'habitude située entre 40 et 50 mètres dans l'entièreté du lac durant les différentes saisons (Langenberg, 1996, *in* Sarvala *et al.*, 1999). La zone photique était habituellement plus profonde à Kigoma qu'au Sud (Sarvala *et al.*, 1999).

#### 2.1.2. L'oxygène dissous

Les eaux superficielles sont saturées en oxygène dissous mais une diminution rapide de la quantité d'oxygène dissous peut être observée en fonction de la profondeur (Fig. 2). La zone de transition des eaux oxygénées aux eaux non oxygénées est en particulier bien définie dans le bassin Nord ; comme l'oxygène dissous dans l'eau disparaît, le sulfure d'hydrogène devient de plus en plus abondant, rendant ainsi les eaux les plus profondes du lac inhabitables pour les poissons ou le plancton (Degens *et al.*, 1971 ; Talling & Talling, 1965).

La forme des profils de l'oxygène dissous dans les deux bassins est distinctement différente. Au Nord, les niveaux baissent régulièrement à travers la thermocline supérieure. Dans le bassin Sud, après une forte baisse immédiatement au-dessous de la couche de mélange, les niveaux diminuent légèrement de 40 à 100 mètres de profondeur. Au-dessous de ce seuil, une autre forte baisse allant jusqu'aux concentrations nulles à 150 mètres est observée (Edmond *et al.*, 1993).

#### 2.1.3. Les nutriments

En général, les nutriments sont définis comme étant les substances nutritives nécessaires à la croissance algale. L'azote, le phosphore et la silice sont considérés comme nutriments (Fig. 3 ; Coulter, 1991). Les organismes photosynthétiques assimilent ces nutriments ce qui résulte en un appauvrissement en nutriments des eaux de surface.

Avec la notion de nutriments se met en place la notion de facteurs limitants. En effet, ils sont définis comme essentiels à la croissance algale et dès lors, si un seul d'entre eux manque ou est en concentration trop faible, la croissance algale en sera diminuée et pourra, dans les cas extrêmes, s'arrêter totalement. Sous les tropiques, ces nutriments peuvent limiter la croissance algale en dépit de la haute température qui permet un recyclage rapide de ceux-ci (Beadle, 1974).

Dans le lac Tanganyika, le temps de résidence théorique de l'eau est très long (440 ans) ce qui favorise l'importance des réserves en nutriments dans les eaux profondes et

aurait comme résultat une productivité très dépendante des apports internes (Coulter, 1991). Les concentrations en nutriments au sein même de la colonne d'eau dépendront donc de l'hydrodynamisme du lac.

Certains auteurs utilisent, en partie, les concentrations en nutriments pour établir le statut trophique du milieu (Wetzel, 1983). En effet, l'eutrophisation d'un milieu est définie comme étant l'augmentation en nutriments dans ce milieu et de ses conséquences. Wetzel (1983) a établi un tableau reprenant les différents paramètres permettant une classification selon le statut trophique du milieu (Tableau 1).

TABLE 13-14 General Trophic Classification of Lakes and Reservoirs in Relation to Phosphorus and Nitrogen

PARAMETER (ANNUAL MEAN VALUES)	OLIGOTROPHIC	MESOTROPHIC	EUTROPHIC	HYPEREUTROPHIC
Total phosphorus ( $\text{mg m}^{-3}$ )				
Mean	8.0	26.7	84.4	-
Range	3.0-17.7	10.9-95.6	16-386	750-1200
N	21	19	71	2
Total nitrogen ( $\text{mg m}^{-3}$ )				
Mean	661	753	1875	-
Range	307-1630	361-1387	393-6100	-
N	11	8	37	-
Chlorophyll <i>a</i> ( $\text{mg m}^{-3}$ ) of phytoplankton				
Mean	1.7	4.7	14.3	-
Range	0.3-4.5	3-11	3-78	100-150
N	22	16	70	2
Chlorophyll <i>a</i> peaks ( $\text{mg m}^{-3}$ ) ("worst case")				
Mean	4.2	16.1	42.6	-
Range	1.3-10.6	4.9-49.5	9.5-275	-
N	16	12	46	-
Secchi Transparency Depth (m)				
Mean	9.9	4.2	2.45	-
Range	5.4-28.3	1.5-8.1	0.8-7.0	0.4-0.5
N	13	20	70	2

Tableau 1 : Classification générale trophique des lacs et réservoirs en relation avec le phosphore, l'azote, la chlorophylle *a* et la transparence de l'eau (Wetzel, 1983)

### 2.1.3.1. Azote

L'épilimnion présente des valeurs faibles en azote qui peuvent même passer sous le seuil de détection à la base de la couche oxygène (Edmond *et al.*, 1993).

En général, la nitrification est limitée aux 150 mètres supérieurs où le mélange peu profond réintroduit du  $\text{NO}_3^-$  dans la zone photique d'une épaisseur de 30 mètres (Hecky *et al.*, 1978). Des événements de mélange plus profonds, par exemple à l'extrémité Sud du lac, apporteront du  $\text{NH}_4^+$  à la couche superficielle.

Au niveau de l'oxycline, les bactéries hétérotrophes utilisant les nitrates comme accepteurs finaux d'électrons réalisent une dénitrification importante. Les nitrates seront d'abord réduits en nitrites, puis en oxydes d'azote et enfin en diazotes. La dénitrification montre qu'il n'y a aucun chargement interne en azote dans les eaux profondes du lac. Cette dénitrification est largement responsable des niveaux bas en azote dans le mixolimnion et donc des rapports N : P très bas (Edmond *et al.*, 1993).

La distribution des nutriments montre un pic pour les nitrates et les nitrites dans la zone de transition entre les eaux oxygénées et les eaux non oxygénées. Ce pic est lié au recyclage de la matière organique et à l'oxydation partielle de l'ammoniaque (Degens *et al.*, 1971).



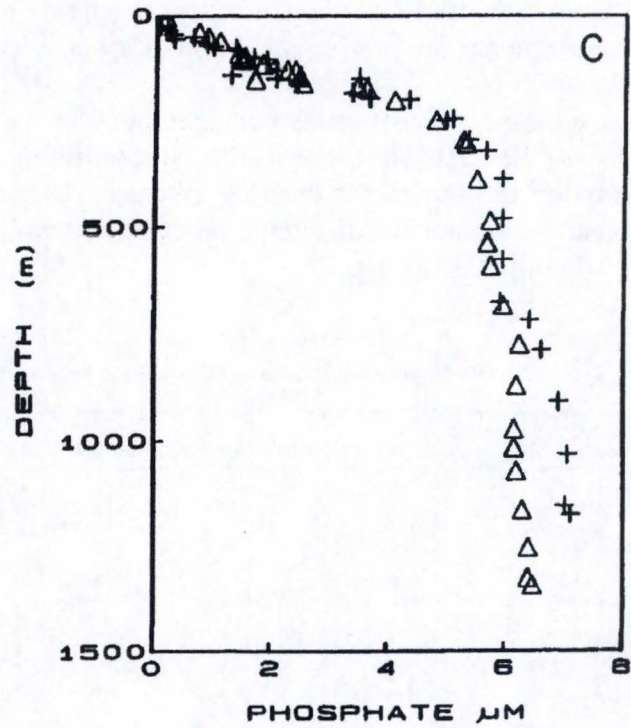


Figure 4 : Concentrations en phosphates ( $\mu\text{M}$ ) en fonction de la profondeur (m) dans le bassin Nord (+) et le bassin Sud ( $\Delta$ ) (Edmond *et al.*, 1993)

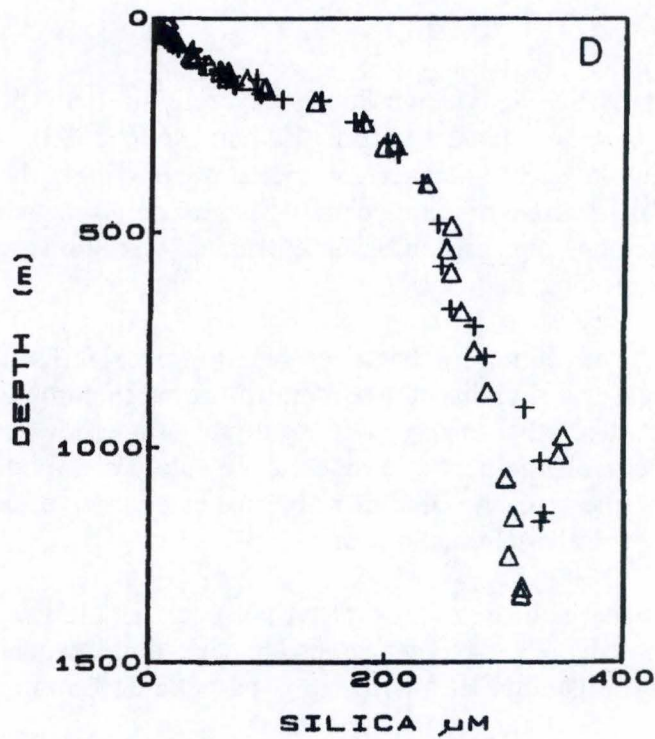


Figure 5 : Concentrations en silice ( $\mu\text{M}$ ) en fonction de la profondeur (m) dans le bassin Nord (+) et le bassin Sud ( $\Delta$ ) (Edmond *et al.*, 1993)

### 2.1.3.2. Phosphore

Le phosphore peut être présent sous différentes formes dont les plus utilisées par les producteurs primaires sont : le phosphore dissous et les orthophosphates ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ). De par cette assimilation, les concentrations en phosphates seront faibles dans l'épilimnion et augmenteront en dessous de 300 mètres de profondeur (Fig. 4). Lors des upwellings, les concentrations en phosphore total augmentent dans les eaux de surface (Plisnier *et al.*, 1996).

### 2.1.3.3. Silice

La silice ( $\text{SiO}_2$ ) est principalement utilisée par les diatomées pour la constitution de leur frustule, ce qui peut diminuer nettement ses concentrations dans les eaux de surface. Les courbes présentées sur la figure 5 peuvent être interprétées par une dissolution, dans les 100 premiers mètres, des restes biologiques sédimentant (Edmond *et al.*, 1993). Dans le bassin Sud, une couche d'eau remarquablement riche en silice est localisée à environ 1000 mètres de profondeur. L'origine et la persistance de cette couche d'une épaisseur maximale inférieure à 200 mètres sont difficiles à expliquer (Edmond *et al.*, 1993).

### 2.1.4. Les ions principaux

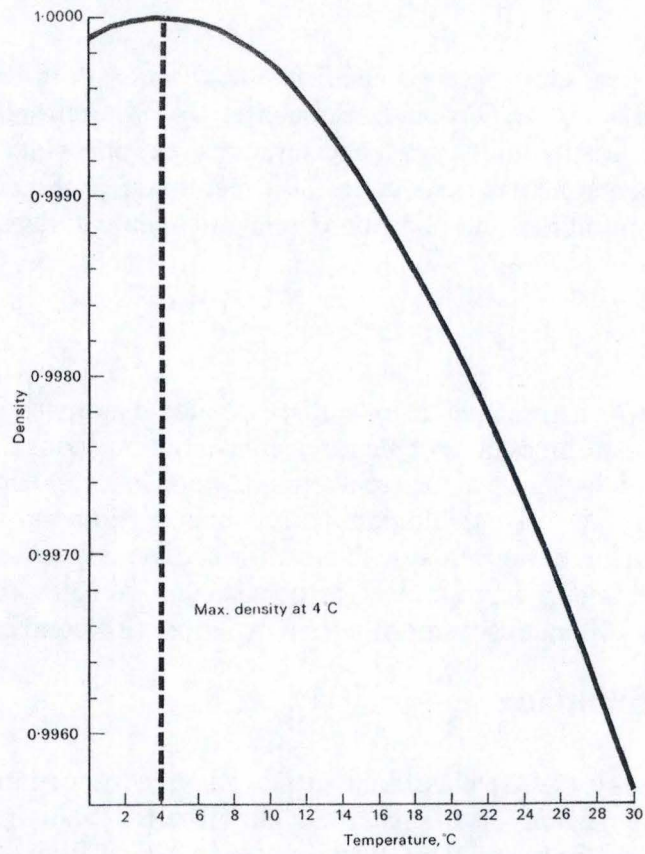
Kilham & Hecky (1973) classifient le lac Tanganyika comme appartenant au type sodium-potassium-magnésium bicarbonate. Le lac Albert, le lac Edouard et le lac Kivu appartiennent tous trois à ce même type (Plisnier *et al.*, 1996 ; Talling & Talling, 1965). Beauchamp (1939) a noté que les eaux contenaient peu de NaCl mais un haut pourcentage de  $\text{NaHCO}_3$  dérivé des roches volcaniques aux alentours (Plisnier *et al.*, 1996).

### 2.1.5. Le pH

Les eaux du lac sont alcalines avec un pH moyen de 9,1 pour les eaux de surface (Edmond *et al.*, 1993). Il diminue ensuite avec la profondeur en raison de l'augmentation de la teneur en dioxyde de carbone liée à l'activité des bactéries hétérotrophes. Cette diminution affectera le pH des eaux superficielles lors de l'upwelling dans le bassin Sud (Plisnier *et al.*, 1996).

### 2.1.6. La conductivité

La conductivité varie en général entre  $660 \mu\text{S cm}^{-1}$  pour les eaux de surface et  $690 \mu\text{S cm}^{-1}$  à 300 mètres de profondeur (Plisnier *et al.*, 1996).



**Figure 6 : Evolution de la densité de l'eau en fonction des températures (Beadle, 1974)**

## 2.2. Hydrodynamique

### 2.2.1. La stratification

La densité de l'eau a la particularité d'être fonction de la température (Fig. 6). Deux eaux de densité différente ne peuvent donc pas se mélanger. Cela permet, lorsque la température n'est pas uniforme, de maintenir une stratification de la colonne d'eau du lac. Dans les lacs tropicaux, où la température reste élevée en permanence, de faibles différences de température entraînent de grandes différences de densité et donc de stratification (Hecky & Kling, 1987).

On distingue trois parties dans la stratification de la colonne d'eau du lac Tanganyika : l'épilimnion, le métalimnion et l'hypolimnion.

L'épilimnion est la partie superficielle du lac. Il peut atteindre les équilibres thermique et gazeux avec l'atmosphère (Coulter, 1991). En général, la température de l'eau y varie entre 23,75 et 27°C. Même si cette partie est isotherme, en cas de temps calme, elle peut subir un réchauffement durant la journée (Coulter, 1991). Cette partie est la moins dense, la mieux éclairée et la plus oxygénée du lac.

Le métalimnion est la partie qui inclut la thermocline. Cette dernière, dont la profondeur varie avec la position sur le lac et les saisons, est la zone de transition thermique entre les eaux superficielles et les eaux plus profondes.

Pour finir, l'hypolimnion correspond à la partie la plus profonde (> 300 mètres) du lac avec des températures à nouveau stables (Plisnier *et al.*, 1996).

D'autres terminologies, comme celle proposée par Hutchinson (1957), proposent que le lac Tanganyika, méromictique de par la persistance de sa stratification tout au long de l'année, se compose d'une masse d'eau supérieure subissant les variations saisonnières et d'une masse d'eau plus profonde et plus froide ayant, quant à elle, une température invariable (Coulter, 1991). On parle alors de mixolimnion (où se situe la thermocline) et de monimolimnion. La distinction entre les deux se fait par la présence ou l'absence d'oxygène et de mélange saisonnier : la première couche est oxygénée et subit les mélanges saisonniers tandis que la seconde est anoxique et ne subit aucun mélange. La séparation des deux couches se fait par l'oxycline qui est la profondeur à laquelle les eaux deviennent totalement anoxiques. Elle est, en général, située aux alentours de 150 mètres ; entre 100-200 mètres suivant la position sur le lac (Edmond *et al.*, 1993 ; Naithani *et al.*, 2003).

Puisque le mélange ne dépasse jamais cette limite, toute la production auto- et hétérotrophe du lac a lieu dans le mixolimnion relativement peu profond (Pirlot *et al.*, 2005).

Les nutriments présents dans les eaux du monimolimnion pourront être redistribués dans les eaux du mixolimnion lors des upwellings dans le bassin Sud (Coulter, 1991).

La stratification peut être une barrière tant au transport vers le haut des nutriments (Hecky & Kling, 1987) qu'au transport de la chaleur, de l'oxygène et des cellules algales.

Deux systèmes principaux de circulation ont été décrits : un premier, dit supérieur, entre la surface et la zone de températures minimales (entre 500 et 800 m) et un second, dit inférieur, entre cette zone et le fond (Fig. 7) (Coulter, 1963).

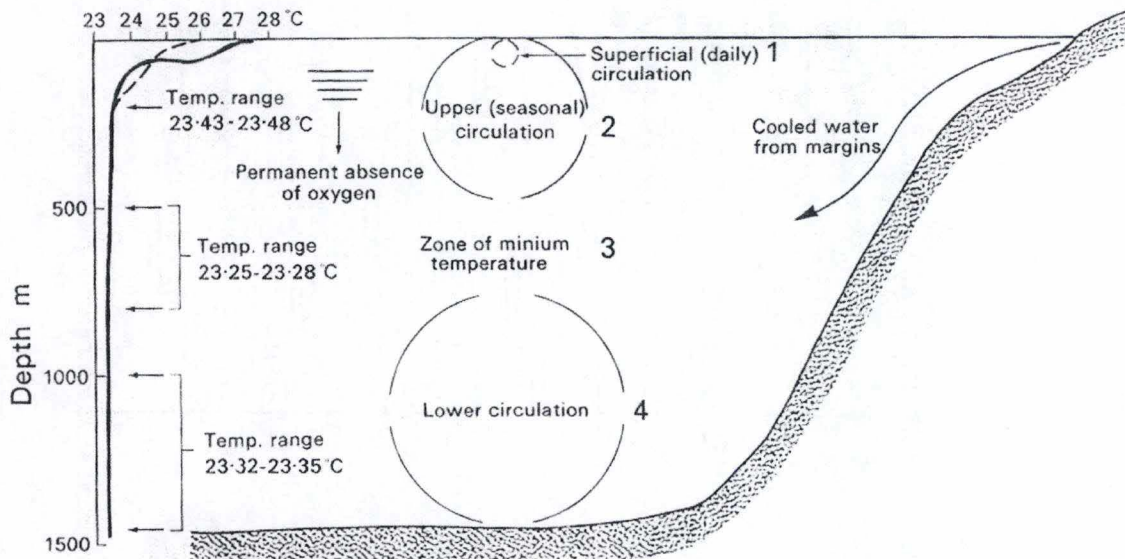


Figure 7 : Schéma de la circulation verticale dans le lac Tanganyika (Coulter, 1963, *in* Beadle, 1974)

Dans le système supérieur, les températures sont contrôlées en grande partie en se réchauffant et se rafraîchissant à la surface mais aussi par le complément d'eau provenant des upwellings. La plupart du mélange est provoquée par la turbulence et les déplacements massifs dans l'épilimnion et le métalimnion causés par l'accent des vents et, aux niveaux plus profonds, par les vagues internes. Les amplitudes des vagues internes dans les 150 mètres supérieurs impliquent que le mélange turbulent en résultant s'étend bien au-dessous de 150 mètres (Coulter, 1963).

Dans le système inférieur, le réchauffement par compression sera plus important près du fond et les eaux du fond seront en plus réchauffées par des flux chauds terrestres provoquant ainsi des courants de convection. Le mélange surviendra dans la région où les températures sont moindres et où un gradient de température extrêmement faible existe ; ainsi cette région occupera un grand intervalle de profondeurs. Les températures se maintenant à cet endroit et plus profondément seront influencées par la montée d'eau provenant des upwellings saisonniers. La mesure dans laquelle l'eau froide s'écoulant le long des marges du lac est mélangée dans le système supérieur de circulation dépendra largement de la pente de fond aux marges du lac. Là où la pente est forte, la plupart des flux descendants entrent dans le système inférieur (Coulter, 1963).

### 2.2.2. Les phénomènes d'upwellings et les vagues internes

Les deux saisons principales sont la saison sèche, de mai à septembre, et la saison des pluies, de fin septembre à début mai. La première se caractérise par un climat plus froid et sec ainsi que par des vents constants et forts du Sud-Est, les Alizés ( $7$  à  $9 \text{ m s}^{-1}$  avec des maxima de  $10$  à  $12 \text{ m s}^{-1}$ ). La seconde est, quant à elle, caractérisée par des précipitations abondantes et des vents plus faibles du Nord-Est (Naithani *et al.*, 2003 ; O'Reilly *et al.*, 2003).

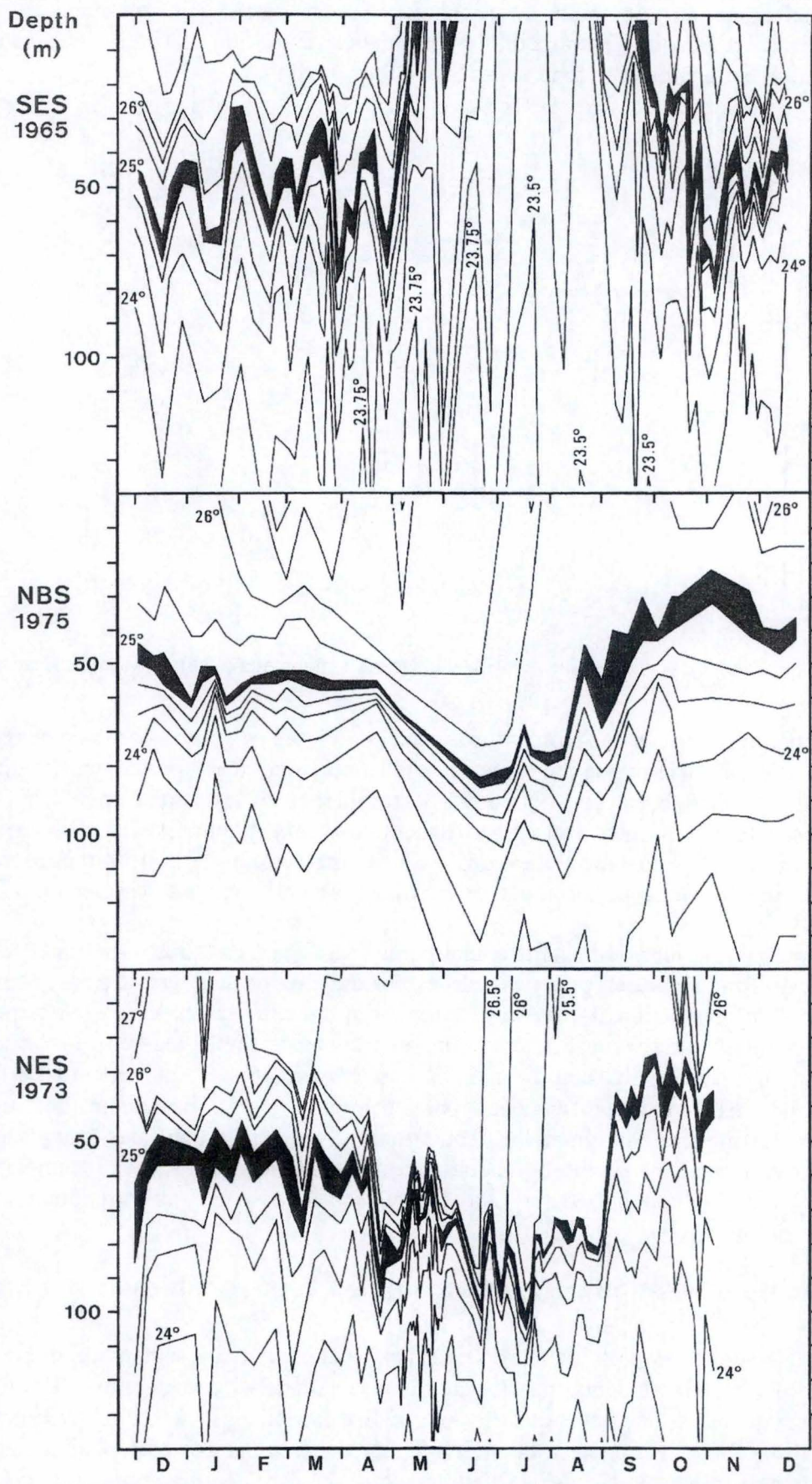


Figure 9 : Distribution des températures de l'eau du lac Tanganyika en fonction de la profondeur et du temps au Sud (station SES) et au Nord (stations NBS et NES) (Coulter, 1991)

Les vents du Sud-Est, auxquels le lac est sensible de par son orientation géographique, ont un effet important sur l'oscillation de l'épilimnion (Fig. 8). En effet, ces vents poussent les eaux chaudes superficielles de l'extrémité Sud vers l'extrémité Nord ce qui provoque les phénomènes d'upwelling dans le bassin Sud pour compenser les pertes en eau (Fig. 9). Ces phénomènes provoquent un apport d'eaux froides riches en nutriments à partir de l'hypolimnion. La stratification est alors déstabilisée au Sud alors qu'elle reste permanente au Nord. Lorsque ces vents cessent, le métalimnion reprend sa position horizontale (Naithani *et al.*, 2003).

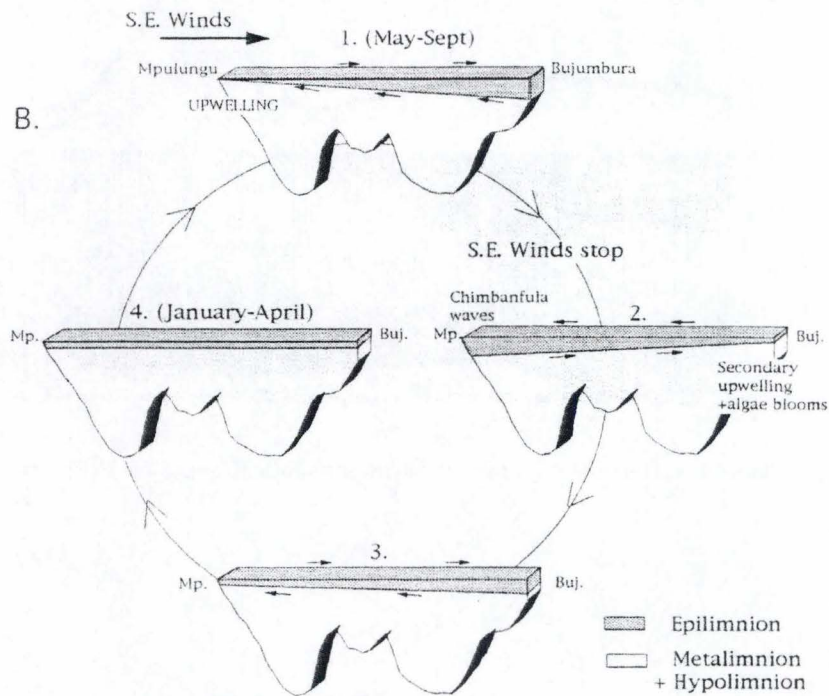


Figure 8 : Déplacement des différentes couches d'eau au cours d'une année (Plisnier *et al.*, 1999)

Avant le retour de la saison des pluies, l'inclinaison de la thermocline et les mouvements d'eau produisent des vagues internes. Ces dernières, à l'opposé des upwellings, ont une action sur l'entièreté du lac et persistent toute l'année (Plisnier *et al.*, 1996). Elles ont comme effet de favoriser la diffusion à travers la thermocline et ainsi l'apport de substances nutritives vers la surface (Pirlot *et al.*, 2005 ; Naithani *et al.*, 2003). L'entraînement des eaux profondes riches en substances nutritives vers la zone euphotique lors de l'upwelling saisonnier aboutit typiquement à une augmentation de la production primaire qui supporte la production des consommateurs via les transferts trophiques (Descy *et al.*, 2005).

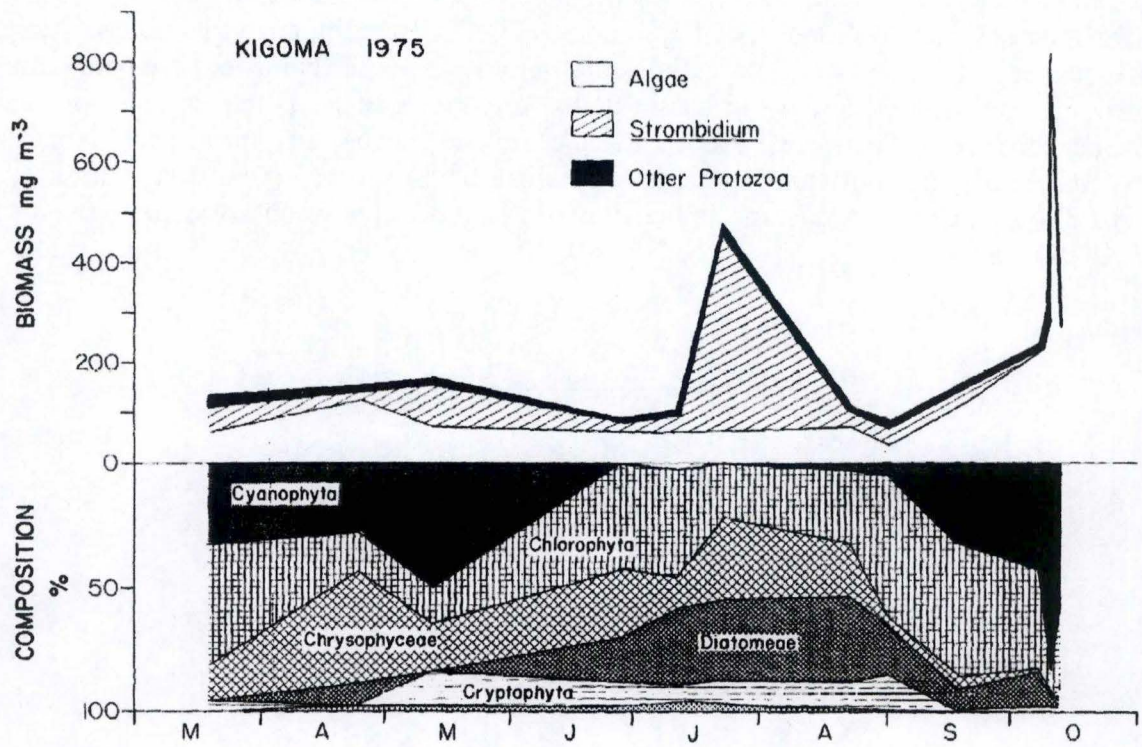


Figure 10 : Succession temporelle des communautés algales à Kigoma en 1975 (Hecky et Kling, 1981)



### 3. Les caractéristiques biologiques

#### 3.1. Le phytoplancton

##### 3.1.1. Composition en espèces

Dans le lac Tanganyika, le nanoplancton partage la dominance avec des cyanobactéries du genre *Anabaena* et des diatomées du genre *Nitzschia* lorsque la biomasse est maximale tandis que le reste du temps seul le nanoplancton domine la biomasse (Hecky & Kling, 1981). Les cryptophycées sont toujours présentes mais sont d'une importance moindre. Des différences dans la composition en espèces ont été observées pour les cyanobactéries : *Chroococcus* spp. est dominant dans les eaux du Nord tandis que *Anabaena flos-aquae* l'est dans les eaux du Sud (Hecky *et al.*, 1978).

À Mpulungu, l'assemblage phytoplanctonique possède une biomasse inférieure à celle rencontrée au Nord en algues vertes et une dominance complète de cyanobactéries T1 (type *Synechococcus*). Une augmentation de la chlorophylle *a* a été observée dans le bassin Sud durant la saison sèche ce qui est essentiellement dû à une augmentation de ces cyanobactéries de taille picoplanctonique. Les cyanobactéries de type T1, dépourvues d'échinénone, peuvent représenter jusqu'à 80 % de la chlorophylle *a* totale. On peut expliquer le succès de ces petites cyanobactéries par une disponibilité en lumière accrue liée à une transparence de l'eau plus grande et à une couche de mélange peu profonde caractéristique de la saison des pluies au lac Tanganyika. De telles conditions, associées à une faible disponibilité en substances nutritives, doivent favoriser de petites cellules algales avec un grand rapport surface : volume, capables d'une assimilation rapide des nutriments. L'importance plus grande des cyanobactéries T1 durant la saison sèche au Sud était plutôt inattendue. En effet, les diatomées se développent pendant cette période, mais dans des quantités semblables à celles rencontrées au Nord, tandis que les cyanobactéries T1 restent en grande partie dominantes. Ainsi, un profond mélange ne provoquerait pas la dominance des diatomées comme attendu mais il semblerait que les petites cyanobactéries soient toujours les individus les mieux adaptés pour exploiter l'entrée de nutriments venant de l'upwelling et pour se développer dans des conditions de lumière réduite (Descy *et al.*, 2005).

##### 3.1.2. Distributions spatiale et temporelle

Dans les grands lacs africains, le cycle saisonnier du phytoplancton correspond très bien au cycle de stratification des eaux. Les conditions de stratification favorisent les cyanobactéries et les chlorophytes alors que les périodes de mélange favorisent les diatomées et les chrysophytes (Fig. 10 ; Hecky & Kling, 1987 ; Talling, 1987 ; Descy *et al.*, 2005). On remarque aussi que dans ces écosystèmes, en plus des fluctuations temporelles, le phytoplancton présente des variations spatiales, aussi bien horizontales que verticales, de son abondance (Crul, 1998).

Dans le lac Tanganyika, la distribution verticale uniforme du phytoplancton se fait dans les 30 mètres supérieurs avec des concentrations quelque peu plus hautes dans les 20 premiers mètres (Hecky *et al.*, 1978). Certaines études ont, cependant, révélé une photo-inhibition prononcée du phytoplancton dans le lac, engendrant dès lors des minima de production primaire près de la surface. La dynamique de ce processus pourrait engendrer quelques complications dans la mesure de la production primaire (Salonen & Sarvala, 1994).

### Chlorophyll *a* (mg m<sup>-3</sup>)

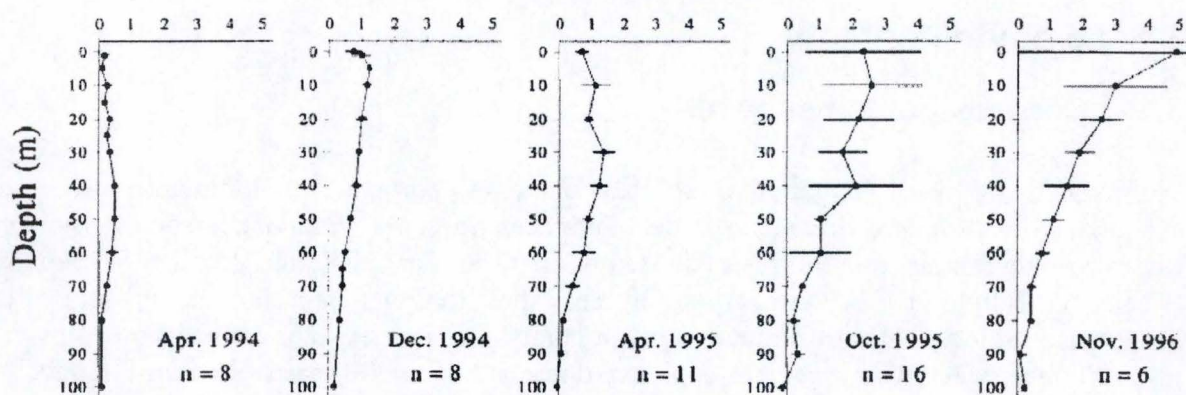


Figure 12 : Profils verticaux moyens de la chlorophylle phytoplanctonique (calculée à partir de la fluorescence) à Kigoma en avril et décembre 1994 et lors de 3 croisières à travers tout le lac en avril-mai 1995, octobre-novembre 1995 et novembre 1996 (Sarvala *et al.*, 1999)

### 3.1.3. Biomasse phytoplanctonique

La biomasse algale dans la couche de mélange des grands lacs africains varie considérablement durant l'année. L'estimation de la biomasse algale moyenne en octobre 1975 était de  $1,1 \mu\text{g l}^{-1}$  de chlorophylle *a* au Nord et de  $0,7 \mu\text{g l}^{-1}$  de chlorophylle *a* au Sud (Fig. 11 ; Hecky & Kling, 1981).

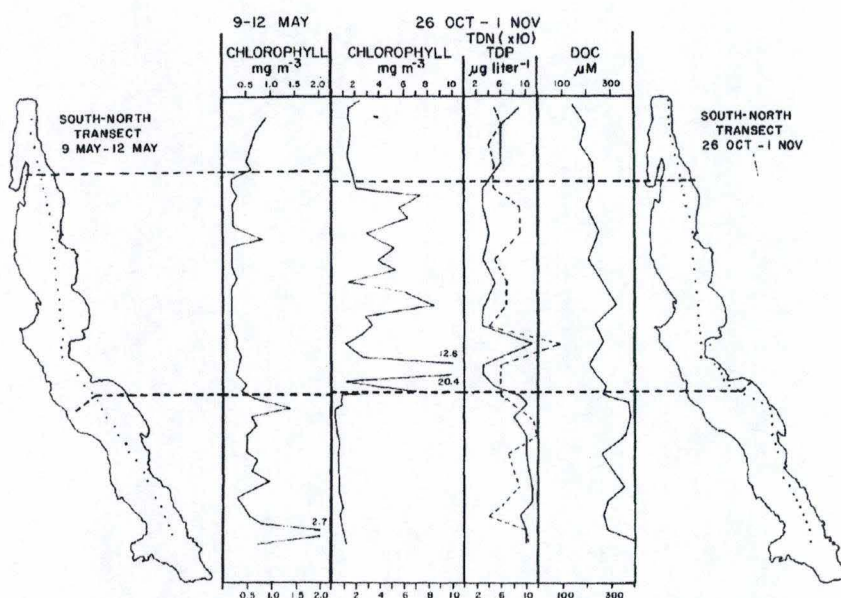


Figure 11 : Distribution horizontale de la chlorophylle *a* et des nutriments dans les eaux de surface du lac Tanganyika en 1975 (Hecky & Kling, 1981)

Sarvala *et al.* (1999) obtiennent, par analyse en fluorescence, des valeurs proches de  $1 \text{ mg chl } a \text{ m}^{-3}$  mais des valeurs de biomasse plus importantes (plusieurs dizaines de  $\text{mg chl } a \text{ m}^{-3}$ ) ont été observées lors de blooms locaux (Fig. 12).

Hecky & Fee (1981) ont calculé un taux de production moyen de  $1,2 \text{ mg C m}^{-2} \text{ j}^{-1}$  pour le lac Tanganyika, ce qui apparaît comme étant très haut comparé aux autres lacs tropicaux. Ils ont également estimé le taux moyen annuel de photosynthèse du phytoplancton du lac Tanganyika à  $800 \text{ mg C m}^{-2} \text{ j}^{-1}$ .

D'autres études, comme celle de Sarmiento *et al.* (2006), offrent une comparaison entre la biomasse moyenne du picoplancton autotrophe au lac Tanganyika et celle au lac Kivu. Pour le lac Tanganyika, la valeur moyenne était de  $1,8 \text{ g C m}^{-2}$  à Kigoma tandis qu'elle était de  $1,1 \text{ g C m}^{-2}$  pour le bassin Sud du lac Kivu.

### 3.1.4. Importance du picophytoplancton

Le phytoplancton est généralement divisé en plusieurs classes de taille dont celle du picoplancton. Cette dernière a été définie par Sieburth *et al.* (1978) comme étant la fraction du phytoplancton de taille inférieure à  $2 \mu\text{m}$  comprenant les bactéries hétérotrophes et le picophytoplancton. Le picophytoplancton (incluant les procaryotes, comme les cyanobactéries, et les eucaryotes) peut alors être défini comme la fraction autotrophe du picoplancton (Vanucci & Bruni, 1998).

Actuellement, on sait que l'abondance relative du picoplancton est généralement plus importante en milieu oligotrophe (Agawin *et al.*, 2000). En effet, le picoplancton tend à dominer la biomasse phytoplanctonique totale dans les lacs tropicaux oligotrophes (Agawin *et al.*, 2000 ; Bell & Kalff, 2001). Certaines études ont souligné l'avantage de la petite taille cellulaire, qui permet un rapport surface : volume élevé pour une meilleure assimilation des nutriments en faible concentration mais aussi sur les relations entre le statut trophique du milieu et son abondance (Fig. 13 ; Veldhuis *et al.*, 2005).

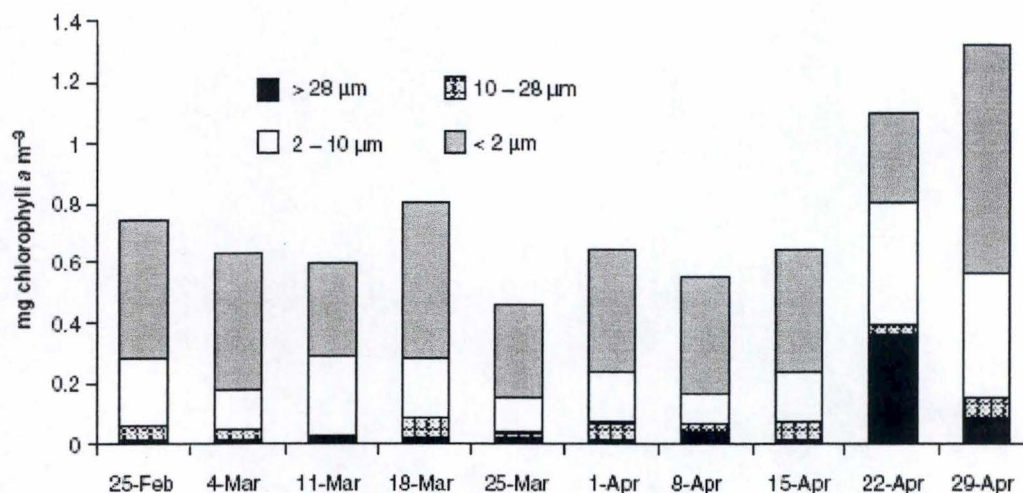


Figure 13 : Classes de taille du phytoplancton à Mpulungu, durant la saison des pluies 2003. La fraction du picoplancton (< 2 μm) contient seulement des pigments de cyanobactéries (type 1 ou type *Synechococcus*) (Descy *et al.*, 2005)

Si l'on compare le milieu pélagique du lac Tanganyika au milieu pélagique du lac Kivu, certaines études montrent que le lac Tanganyika présente une plus grande densité de *Synechococcus*-like que celle retrouvée au lac Kivu. En effet, au lac Kivu la densité maximale était de plus ou moins  $2 \times 10^5$  cellules ml<sup>-1</sup> tandis qu'au Tanganyika elle atteignait environ  $4,5 \times 10^5$  cellules ml<sup>-1</sup> (Sarmiento *et al.*, 2006).

Pour le lac Tanganyika, aucune étude ne donne de valeurs en ce qui concerne le milieu côtier. Comme aucune valeur n'est disponible, nous pouvons comparer le milieu pélagique et le milieu côtier du lac Tanganyika à d'autres milieux oligotrophes marins tels que la mer Méditerranée ou la mer de Chine. Nous pourrions ainsi voir si les valeurs trouvées dans cette étude pour le lac Tanganyika concordent avec les autres milieux présentés ici.

Dans les eaux de surface de la mer Méditerranée, en octobre 2000, les valeurs moyennes d'abondance pour *Synechococcus* sp. se situaient à environ  $1,54 \times 10^4$  cellules ml<sup>-1</sup>. En septembre 2002, elles se situaient à plus ou moins  $2,25 \times 10^4$  cellules ml<sup>-1</sup> (Uysal, 2006).

Sous des conditions normales, la contribution de *Synechococcus* sp. à la biomasse phytoplanctonique totale en mer Méditerranée pourrait excéder les 50 % (Uysal, 2006).

Dans le Nord-Ouest de la mer Méditerranée, en septembre 2000, les valeurs d'abondance pour *Synechococcus* sp., en milieu côtier, étaient de 95000 cellules ml<sup>-1</sup> tandis qu'elles n'étaient que de 2000 cellules ml<sup>-1</sup> entre septembre et avril 2000 (Charles *et al.*, 2005).

Certaines études sur la mer de Chine ont montré des abondances de *Synechococcus* sp. allant de 0,1 à  $2,22 \times 10^4$  cellules ml<sup>-1</sup> en milieu pélagique et de 0,1 à  $8,5 \times 10^4$  cellules ml<sup>-1</sup> en milieu côtier (Jiao *et al.*, 2005).

Bien qu'en nombre élevé, les picoeucaryotes ont une biomasse relative à la biomasse phytoplanctonique totale généralement petite. Ceci n'est pas seulement le cas dans les régions tropicales où les picocaryotes dominent la biomasse algale. C'est, en effet, également le cas dans les régions tempérées où le nanoplancton et les grandes diatomées dominent la population phytoplanctonique (« blooms » de printemps). Chisholm (1992) a conclu que l'importance du picophytoplancton tombait significativement à moins de 20% quand la concentration totale en chlorophylle *a* excédait  $1 \mu\text{g l}^{-1}$ . Charles *et al.* (2005) ont montré que la contribution du picophytoplancton à la biomasse phytoplanctonique était maximale lorsque la biomasse totale en chlorophylle *a* était faible.

Un des avantages d'être petit dans les environnements appauvris en nutriments, c'est d'être moins limité par la diffusion moléculaire des nutriments (Chisholm, 1992). Les petites cellules peuvent prendre avantage de leur grand rapport surface : volume (Raven, 1986, *in* Callieri & Stockner, 2000). De plus, chez les picocyanobactéries, la structure procaryote permet un plus faible coût pour le métabolisme de maintien. Ces différents facteurs sont probablement la raison majeure de leur succès dans des conditions oligotrophes (Weisse, 1993, *in* Callieri & Stockner, 2000).

Comme noté en premier par Harris (1980), le taux de croissance des assemblages mixtes du phytoplancton est dépendant de la gamme de taille des cellules. Les changements dans la taille des cellules peuvent être une stratégie de la communauté pour exploiter les différentes variables environnementales (Callieri & Stockner, 2000).

Certaines études ont permis d'établir une relation entre la dominance de certaines algues et le statut trophique du milieu décrit par la concentration en chlorophylle *a*, pigment photosynthétique commun à toutes les algues (Vörös *et al.*, 1998). Cependant, Huszar *et al.* (1998) mettent en évidence les difficultés d'application des critères développés pour le statut trophique des régions tempérées aux régions tropicales (Huszar *et al.*, 2000).

En utilisant les données de Vörös *et al.* (1998), on peut essayer d'indiquer une tendance générale dans un modèle graphique illustrant les aires d'occurrence possible des picocyanobactéries et leur contribution à la biomasse phytoplanctonique totale (chlorophylle *a*) à l'intérieur d'un large gradient trophique (Fig. 14 ; Stockner *et al.*, 1999, *in* Callieri & Stockner, 2000).

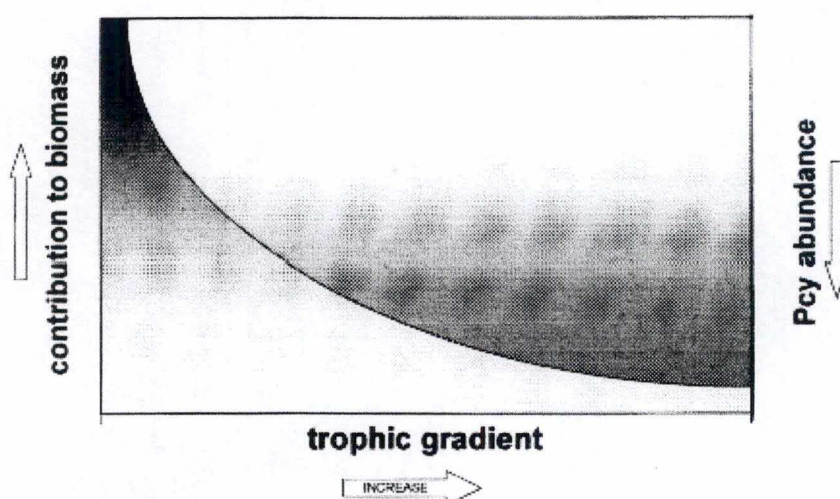


Figure 14 : Tracé schématique des aires d'occurrence des picocyanobactéries et de leur contribution relative à la biomasse phytoplanctonique totale (chlorophylle *a*) le long d'un gradient trophique (Stockner *et al.*, 2000, modifié)

Dans certains lacs oligotrophes, avec des concentrations en nutriments très faibles, si des conditions telles que le climat lumineux, l'impact du broutage et la compétition sont favorables, les picocyanobactéries peuvent rivaliser avec toutes les autres algues autotrophes (Callieri & Stockner, 2000). La limitation en nutriments va induire une compétition, pour ces nutriments limitants, entre le phytoplancton et les bactéries. Ces dernières peuvent être des compétiteurs efficaces (Currie & Kalff, 1984). Le succès compétitif des bactéries a été suggéré comme étant le résultat de leur petite taille et donc de leur grand rapport surface : volume, par comparaison à celle du phytoplancton (Currie & Kalff, 1984). Pour les mêmes raisons, le picophytoplancton, comparé au grand phytoplancton, est un bon compétiteur pour les nutriments inorganiques à basse concentration (Fogg, 1986, *in* Drakare *et al.*, 2002). C'est la raison pour laquelle il domine souvent la biomasse et la production phytoplanctoniques estivales dans les lacs oligotrophes (Stockner, 1987, *in* Drakare *et al.*, 2002 ; Nagata *et al.*, 1994, *in* Drakare *et al.*, 2002).

Le picophytoplancton peut compter pour une large fraction de la production annuelle en carbone, spécialement dans les lacs oligotrophes, où 50 à 70 % de la fixation annuelle de carbone sont attribués à la fraction de taille inférieure à 2  $\mu\text{m}$  (Agawin *et al.*, 2003). Il peut également contribuer à la biomasse phytoplanctonique totale (chlorophylle) avec des valeurs allant de 10 à 45 % de la chlorophylle totale (Stockner & Antia, 1986, *in* Carpenter, 1988).

Au point de vue production primaire, certaines études rapportent des contributions du genre *Synechococcus* à la production primaire phytoplanctonique totale s'étendant sur une gamme de 5 à 30 % en milieu pélagique (Waterbury *et al.*, 1986, *in* Brahamsha, 1996). Charles *et al.* (2005) ont rapportés des valeurs de 67  $\text{mg C m}^{-3} \text{j}^{-1}$  en mars 2000 pour le milieu côtier de la mer Méditerranée (63  $\text{mg}$  proviennent du phytoplancton > 2  $\mu\text{m}$ ). La contribution du picophytoplancton à la production phytoplanctonique dans ces eaux atteint 77 % en septembre 2000.

D'autres études plus récentes (Stenuite *et al.*, 2007) ont montré que la contribution du picophytoplancton à la production phytoplanctonique totale atteignait seulement 56 % au lac Tanganyika durant la saison des pluies 2006.

Certaines études utilisant la cytométrie de flux ont reconnu que le picoplancton photosynthétique (procaryote et eucaryote) était un important composant des populations phytoplanctoniques dans la plupart des estuaires, des eaux côtières (Vaulot *et al.*, 1990) et des océans (Li & Wood, 1988, *in* Moreira Turcq & Martin, 1998 ; Olson *et al.*, 1990, *in* Moreira-Turcq & Martin, 1998).

### 3.1.5. Diversité des picocyanobactéries

Dans les milieux d'eau douce, le picoplancton autotrophe est composé d'une contribution mineure d'algues vertes (< 5%), mais surtout de picocyanobactéries de type *Synechococcus* (Weisse, 1993, *in* Katano & Fukui, 2003).

En dépit de leur ubiquité, celles-ci n'ont cependant été découvertes qu'à la fin des années 70, quand des techniques telles que la microscopie à épifluorescence ou la cytométrie de flux ont été utilisées pour l'énumération des microorganismes (Callieri *et al.*, 2002).

Ces techniques ne permettent cependant pas d'appréhender la diversité des picocyanobactéries, révélée importante par certaines études (Postius, 1996, *in* Katano & Fukui, 2003). Celles-ci ne peuvent en général pas être différenciées sur base de leurs

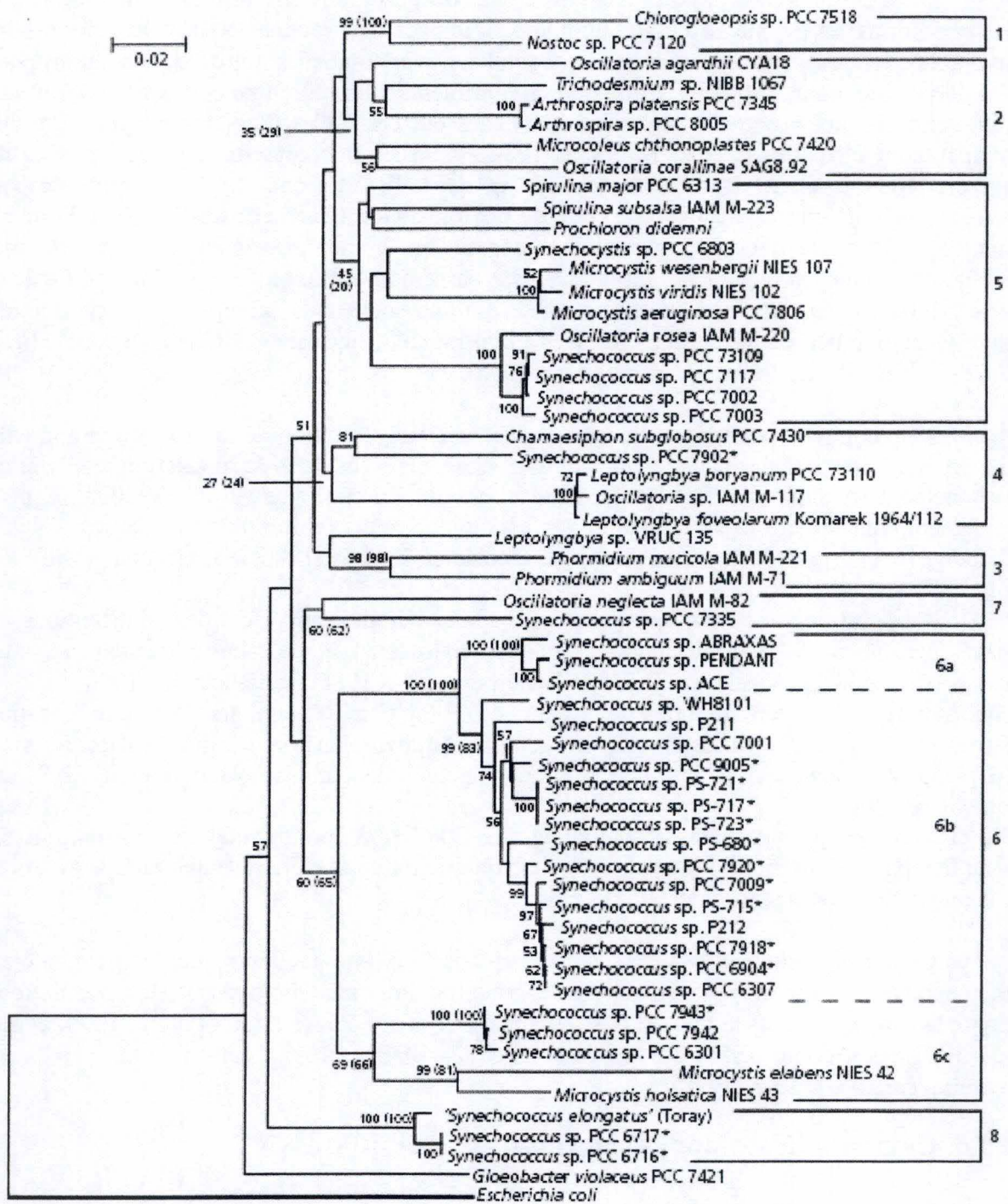


Figure 15 : Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences d'ADNr 16S cyanobactérien avec *E. coli* comme groupe externe (Robertson *et al.*, 2001)

caractéristiques morphologiques, qui sont très simples (Stockner, 1988). Des outils moléculaires sont donc nécessaires. Parmi les différentes techniques moléculaires utilisées pour analyser cette diversité, la plus communément choisie est la construction et l'analyse phylogénétique de bibliothèques de clones pour les séquences codant l'ARN ribosomique 16S (Kemp & Aller, 2004).

A l'heure actuelle, l'identification des espèces de *Synechococcus* n'est pas claire (Robertson *et al.*, 2001). Les analyses phylogénétiques à partir des gènes codant pour l'ARNr 16S montrent que le genre *Synechococcus*, incluant des souches marines et dulcicoles, est polyphylétique et devrait donc être divisé en plusieurs genres (Fig. 15 et Fig. 16; Honda *et al.*, 1999; Robertson *et al.*, 2001; Fuller *et al.*, 2003). Quand beaucoup plus de données sur les séquences auront été accumulées, les analyses phylogénétiques montreront sûrement que le genre *Synechococcus* est beaucoup plus diversifié (Honda *et al.*, 1999).

L'étude présentée ici propose une approche génétique qui permettrait de voir s'il existe des différences, au niveau de la diversité génétique des picocyanobactéries, entre le milieu pélagique et le milieu côtier du lac Tanganyika, ce qui n'a jamais été réalisé auparavant.

S'il existe des différences entre les populations de la zone pélagique et de la zone littorale, celles-ci présenteront certainement des réponses écologiques différentes suite aux variations des conditions environnementales entre ces deux milieux.

### 3.2. Le réseau trophique

Habituellement, dans les écosystèmes lacustres, la chaîne trophique présentait une structure linéaire : le phytoplancton, fixateur de carbone à la base de la chaîne trophique, est la proie du zooplancton qui à son tour sert de nourriture aux poissons planctonophages puis aux poissons piscivores. Dans ce modèle, les bactéries sont considérées comme de simples détritivores et minéraliseurs de la matière organique (Azam *et al.*, 1983).

Différentes études, comme celles de Hecky (1991 *in* Coulter) et de Hecky & Kling (1981), ont permis d'évaluer l'abondance bactérienne et celle des protozoaires. Les résultats obtenus sont inattendus : malgré le caractère oligotrophe du lac Tanganyika, l'efficacité de transfert du carbone de la production primaire vers les poissons atteint un rendement proche de celui observé dans les systèmes marins les plus productifs. Hecky & Kling (1981) proposèrent une hypothèse pour tenter d'expliquer cela : la production bactérienne et celle des protozoaires dans le mixolimnion complèteraient la production autotrophe dans le transfert de carbone et de nutriments vers les plus grands consommateurs. Van Meel (1954) avait déjà mentionné des bactéries et des ciliés en abondance dans ses échantillons de plancton et avait prévu qu'une haute production de microorganismes hétérotrophes pourrait être canalisée vers les poissons pélagiques via le broutage par les copépodes. Il avait évoqué la production bactérienne pour résoudre le paradoxe de la concurrence d'une haute transparence, d'un phytoplancton épars et d'un zooplancton abondant (Coulter, 1991).

Hecky (1991 *in* Coulter) a également remarqué que le réseau trophique du lac Tanganyika avait des caractéristiques proches de celui des milieux marins. En effet, dans la chaîne alimentaire classique, le brouteur primaire est un copépode calanoïde, comme dans les écosystèmes marins. Les planctonophages primaires sont des clupéidés d'origine marine tandis que les piscivores sont tous des Centropomidés, une famille marine (Crul, 1998).



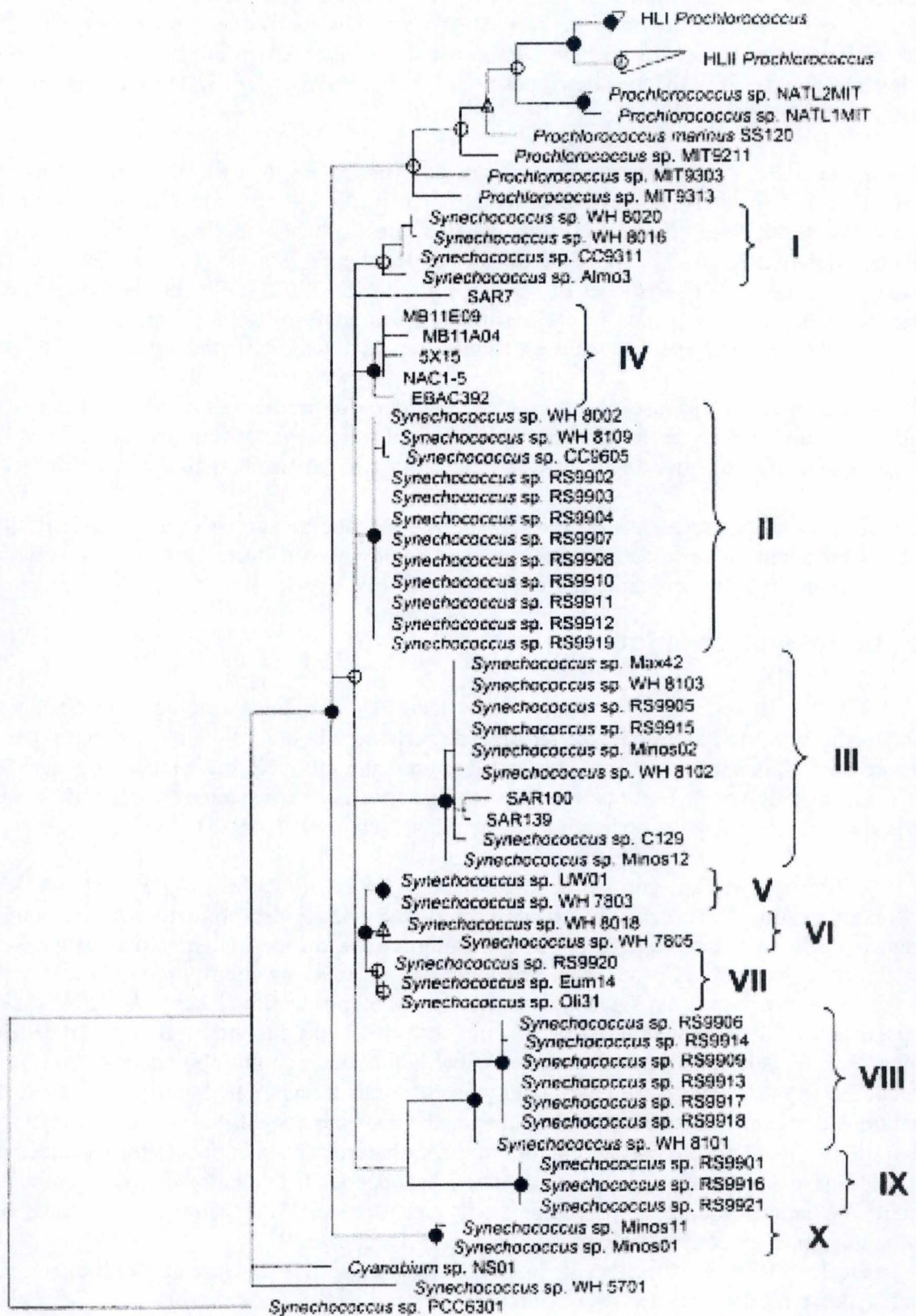


Figure 16 : Arbre phylogénétique des séquences d'ADNr 16S de *Synechococcus* marines et de *Prochlorococcus* (Fuller *et al.*, 2003)

Habituellement, on s'attend à ce que la production primaire phytoplanctonique soit la source principale d'énergie pour les niveaux trophiques pélagiques supérieurs, incluant les poissons (Sarvala *et al.*, 1999). Il est maintenant bien admis qu'il existe deux sources principales de carbone autochtone dans les milieux aquatiques : le phytoplancton autotrophe qui utilise la lumière comme énergie et les bactéries hétérotrophes qui utilisent, quant à elles, les matières organiques autochtones ou dérivées d'autres écosystèmes (Jones, 1992).

Aujourd'hui, le concept de chaîne trophique s'est étendu à celui de réseau trophique. Ce terme permet de mieux rendre compte des nombreuses interactions existantes entre les différents niveaux trophiques. Le réseau trophique du lac Tanganyika est complexe et sa grande productivité ne peut donc pas être expliquée uniquement par une simple chaîne alimentaire à structure linéaire. Maintenant, le picophytoplancton et les bactéries sont reconnus comme étant des composants clés des communautés planctoniques, spécialement dans les lacs oligotrophes, où ils jouent un rôle important dans les transports de matière et d'énergie (Stockner, 1987, *in* Carpenter, 1988).

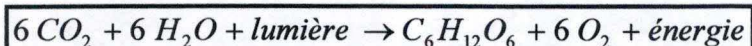
### 3.2.1. La production primaire

On distingue généralement la production particulaire de la production dissoute. La première correspond au carbone organique incorporé à la biomasse tandis que la seconde résulte de la production extracellulaire (ou ER, extracellular release) et correspond à l'excrétion de petites molécules organiques par le phytoplancton. Ces petites molécules, facilement assimilables par les bactéries, s'ajoutent au pool de carbone organique dissous (DOC, dissolved organic carbon). Le DOC assimilé par les bactéries hétérotrophes va permettre leur croissance. Une partie de la biomasse bactérienne va ensuite être broutée par des nanoflagellés hétérotrophes et des ciliés (Weisse, 1989). La production dissoute est donc partiellement recyclée par la « boucle microbienne » (voir 3.2.3). Au cours de cette étude, seule la production particulaire a été prise en compte.

#### 3.2.1.1. Production particulaire

La production primaire est un processus biologique important ayant une influence sur beaucoup de processus écologiques dans l'ensemble du lac et sur tous les niveaux trophiques. L'abondance et les taux photosynthétiques du phytoplancton varient en réponse à des facteurs physiques, chimiques et biologiques et sont une mesure de l'apport des ressources à d'autres niveaux trophiques (Beadle, 1974).

Lorsque l'on parle de production primaire, on veut, en réalité, parler de la synthèse de molécules organiques par les organismes autotrophes. Cette synthèse, à partir de l'énergie lumineuse, permet l'accroissement de la biomasse de ces organismes - qui peut être estimée grâce à la chlorophylle *a* - qui s'exprime en gramme de carbone par mètre cube ou en gramme de carbone par mètre carré ( $\text{g C m}^{-3}$  ou  $\text{g C m}^{-2}$ ). La photosynthèse se résume à l'équation suivante :



Puisque la photosynthèse est la synthèse de molécules organiques à partir de carbone inorganique, la mesure de la production primaire effectuée par le phytoplancton se base

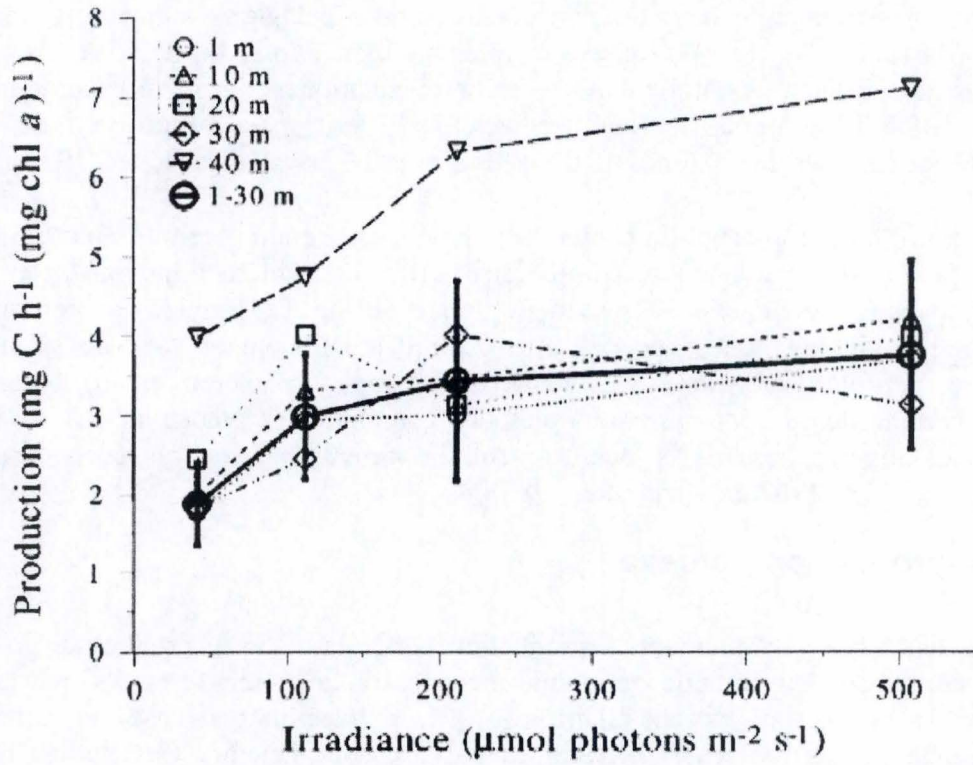


Figure 17 : Courbe photosynthèse – lumière pour le lac Tanganyika (Sarvala *et al.*, 1999)

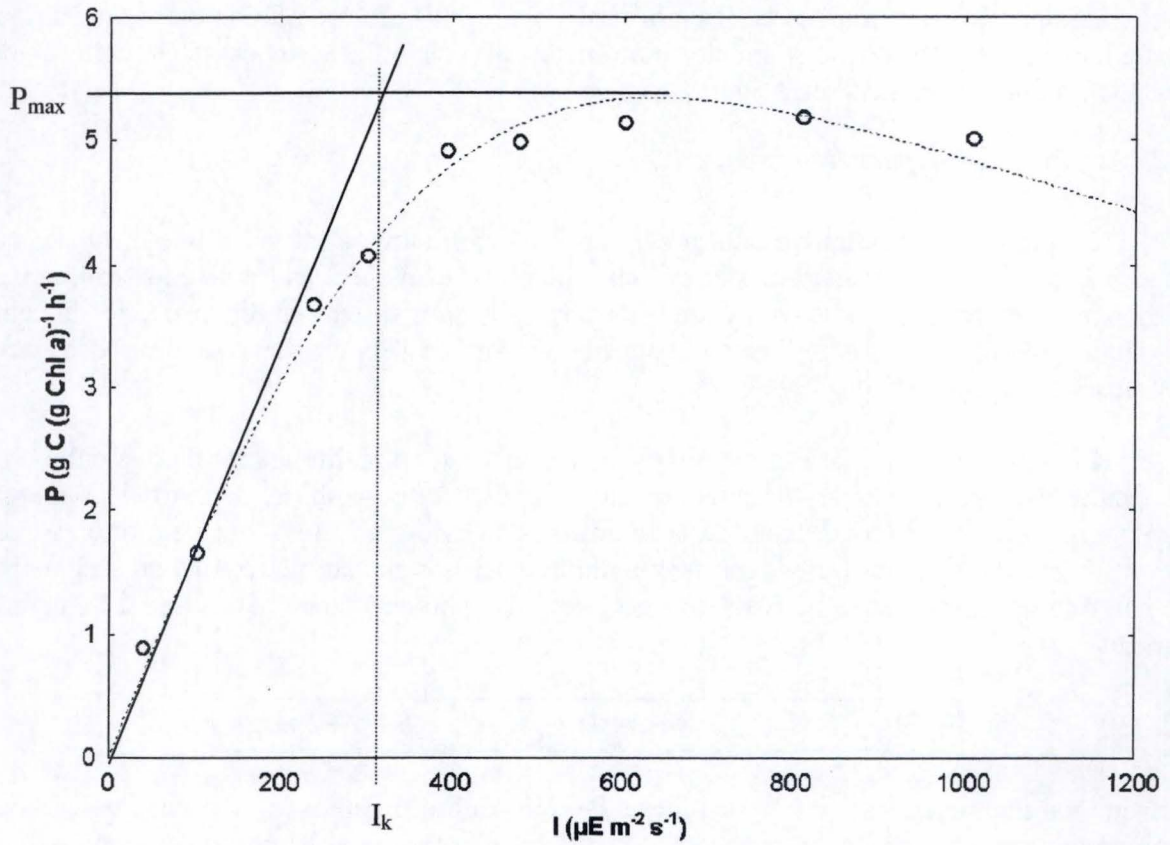


Figure 18 : Exemple de courbe photosynthèse – lumière obtenues pour des mesures en incubateur au lac Tanganyika (d'après Stenuite *et al.*, 2007)

généralement sur l'incorporation de carbone radioactif (Steeman Nielsen, 1952 ; Beadle, 1974).

Toutes choses étant égales (température, biomasse phytoplanctonique, ...), la production primaire va donc dépendre de deux choses : la disponibilité en nutriments et la quantité de lumière dans l'eau. Cette production s'effectue dans la zone photique c'est-à-dire la zone comprise entre la surface et la profondeur à laquelle l'intensité lumineuse n'est plus que de 1 % de l'intensité lumineuse en surface ( $I_0$ ).

L'étude des relations photosynthèse – lumière montre que la photosynthèse n'est pas directement proportionnelle à l'intensité lumineuse reçue. On observe une saturation avec une valeur maximale de photosynthèse puis éventuellement une photo-inhibition lorsque les intensités lumineuses sont trop fortes.

Au lac Tanganyika, les mesures de production primaire, réalisées en incubateur à différents niveaux d'intensité lumineuse, aboutissent à des courbes photosynthèse – lumière avec peu de photo-inhibition (Fig. 17). On notera que le phytoplancton est capable de photosynthèse jusqu'à des niveaux d'intensité lumineuse très bas comme ceux rencontrés à 30-40 mètres de profondeur (Sarvala *et al.*, 1999). De plus, aucun signe de photo-inhibition n'a été observé jusqu'au niveau d'intensité lumineuse expérimental le plus haut qui était de  $512 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Sarvala *et al.*, 1999). Ce serait le mélange de l'épilimnion qui diminuerait l'effet néfaste des intensités lumineuses importantes en permettant la circulation des algues dans la colonne d'eau et donc une exposition moindre aux radiations (Sarvala *et al.*, 1999).

Ces relations permettent la détermination des deux paramètres que sont  $I_k$  et  $P_{\text{max}}$ . Le premier est l'intensité au seuil de la saturation c'est-à-dire l'intensité à laquelle on atteindrait  $P_{\text{max}}$  s'il n'y avait pas saturation. Il s'exprime en microEinstein par mètre carré par seconde ( $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Le second correspond à l'activité photosynthétique par unité de biomasse planctonique ( $\text{mg C assimilé (mg chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) en lumière saturante (Fig. 18).

Grâce à ces courbes, le paramètre  $\alpha$ , correspondant à la pente initiale de la relation photosynthèse – lumière, peut être trouvé en utilisant la formule suivante :

$$\alpha = \frac{P_{\text{max}}}{I_k}$$

Ce dernier paramètre mesure l'efficacité de la photosynthèse c'est-à-dire le taux d'assimilation du carbone par unité de chlorophylle et par unité d'éclairement (Veldhuis *et al.*, 2005).

Hecky & Fee (1981) estiment une production primaire annuelle moyenne du lac Tanganyika de  $0,8 \text{ g C m}^{-2} \text{ j}^{-1}$ . Ces auteurs expliquent la forte production des consommateurs (zooplancton et poissons), malgré une faible production primaire, caractéristique d'un lac oligotrophe, par une forte efficacité de transfert de matière organique dans la chaîne trophique. D'autres études, comme celle de Sarvala *et al.* (1999), ont permis d'estimer une production primaire annuelle moyenne de  $1,2 \text{ g C m}^{-2} \text{ j}^{-1}$ . La production piscicole plus faible, lors de cette étude, leur a permis de conclure que l'efficacité du transfert de carbone n'était pas particulièrement élevée.

### 3.2.1.2. Production dissoute

Il est admis depuis un certain temps que le phytoplancton, en plus de réaliser la photosynthèse, libère des composés organiques. On donne habituellement le nom d'excrétion à cette libération active de DOC par une population phytoplanctonique saine (Brock & Clyne, 1984). Malinsky-Runshansky & Legrand (1996) donnent le nom d'excrétion algale à la libération de DOC qui survient lors de la photosynthèse d'une population phytoplanctonique saine. Des molécules organiques peuvent être libérées durant l'autolyse (Golterman, 1964, *in* Cole *et al.*, 1982), la lyse par parasites intra- ou extracellulaires (Daft & Stewart, 1973), la rupture des cellules lors de l'ingestion par le zooplancton (Pourriot, 1963, *in* Cole *et al.*, 1982) ou encore le métabolisme du glycolate lors de la photorespiration, augmentant ainsi la disponibilité en carbone organique pour les bactéries hétérotrophes (Brock & Clyne, 1984). Wetzel *et al.* (1972) ont remarqué que 82 % du carbone organique dissous (DOC) libéré par les algues provenaient de l'autolyse et que les 18 % restants provenaient de l'excrétion par le phytoplancton vivant (Storch & Saunders, 1978). Ces proportions restent très variables d'un milieu à l'autre.

Les bactéries hétérotrophes utilisent directement les produits excrétés par les algues et il est généralement admis que la production bactérienne est étroitement corrélée à la production primaire. Straskrabova et Komarkova ont montré que les pics de bactéries étaient généralement légèrement décalés des maxima algaux (Brock & Clyne, 1984 ; Azam *et al.*, 1983). En parallèle à la chaîne alimentaire classique, on retrouve donc la boucle microbienne dont le point de départ est la réassimilation, par les bactéries hétérotrophes, des DOC libérés par le phytoplancton (Brock & Clyne, 1984).

### 3.2.2. La production bactérienne

Le schéma général de la production bactérienne peut se diviser comme suit : assimilation de DOC par les bactéries, respiration et production de la biomasse bactérienne et enfin abondance bactérienne.

L'assimilation de DOC est rarement mesurée. Elle peut néanmoins être quantifiée par une assimilation de glucose marqué par les bactéries.

La production bactérienne est généralement calculée sur base des taux d'incorporation de thymidine ou de leucine radioactive convertis, grâce à un facteur de conversion, en production cellulaire. Cette dernière devra être multipliée par le contenu moyen en carbone des cellules bactériennes qui sera obtenu à partir des biovolumes (estimés par microscopie à épifluorescence). La biomasse bactérienne peut être exprimée en  $\text{mg C m}^{-3}$  mais peut également être exprimée en  $\text{mg C m}^{-2}$  en l'intégrant sur toute la colonne d'eau.

Enfin, l'abondance bactérienne est le nombre de cellules bactériennes que l'on retrouve par millilitre ou par litre.

L'efficacité de croissance bactérienne peut alors être définie par le rapport entre la production bactérienne et l'assimilation.

Les abondances et les productions du bactérioplancton et du phytoplancton ont été démontrées comme étant covariantes le long d'une large gamme de statut trophique aussi bien en eau douce qu'en milieu marin (Cole *et al.*, 1988). Ces relations ont supporté un modèle général de la dépendance des bactéries, soit directe soit indirecte, à la production algale comme source primaire de substrats organiques (Cole *et al.*, 1988).

Cette relation positive entre les dynamiques bactérienne et algale appuie le fait que la production bactérienne est limitée par l'apport en carbone organique. Il a également été

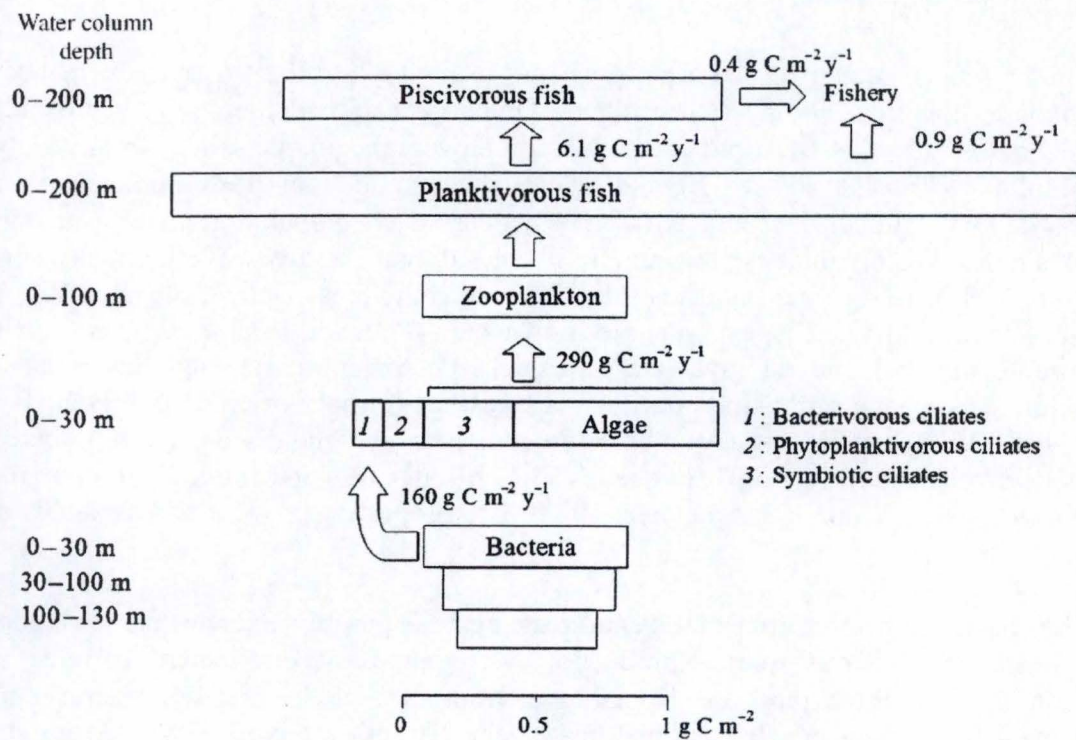
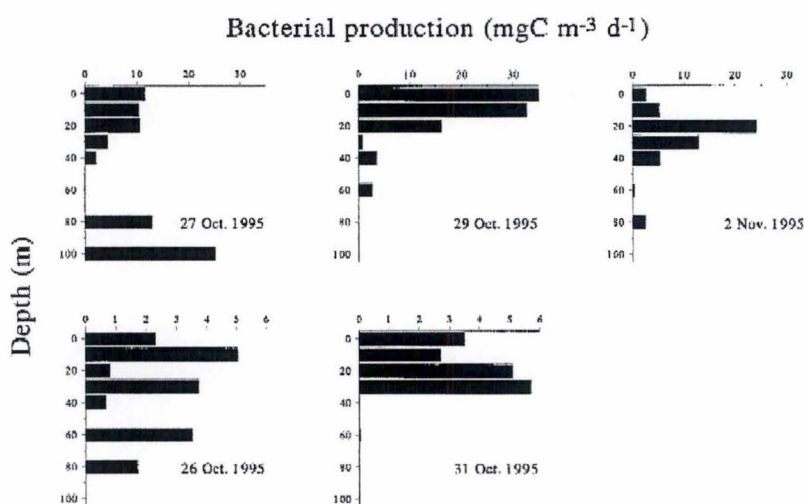


Figure 20 : Structure trophique du lac Tanganyika (Pirlot *et al.*, 2005, redessiné de Hecky *et al.*, 1981)

démontré que la disponibilité en phosphore peut aussi limiter la production bactérienne (Morris & Lewis, 1992).

Dans certaines expériences faites sur le lac Tanganyika en avril-mai 1995 (Järvinen *et al.*, 1996), le taux de production de biomasse bactérienne était équivalent à une moyenne de  $2,8 \text{ mg C m}^{-3} \text{ j}^{-1}$  si l'on supposait un taux égal jour et nuit. Ce taux était légèrement supérieur à 20 % de la production primaire phytoplanctonique moyenne ( $13,6 \text{ mg C m}^{-3} \text{ j}^{-1}$ ) mesurée dans les mêmes expériences (Sarvala *et al.*, 1999).

En octobre 1995, les taux de production bactérienne, calculés pour deux sites d'échantillonnage, étaient semblables à ceux mesurés en avril-mai de la même année, mais pour trois autres sites des valeurs beaucoup plus hautes ont été obtenues (Fig. 19 ; Sarvala *et al.*, 1999).



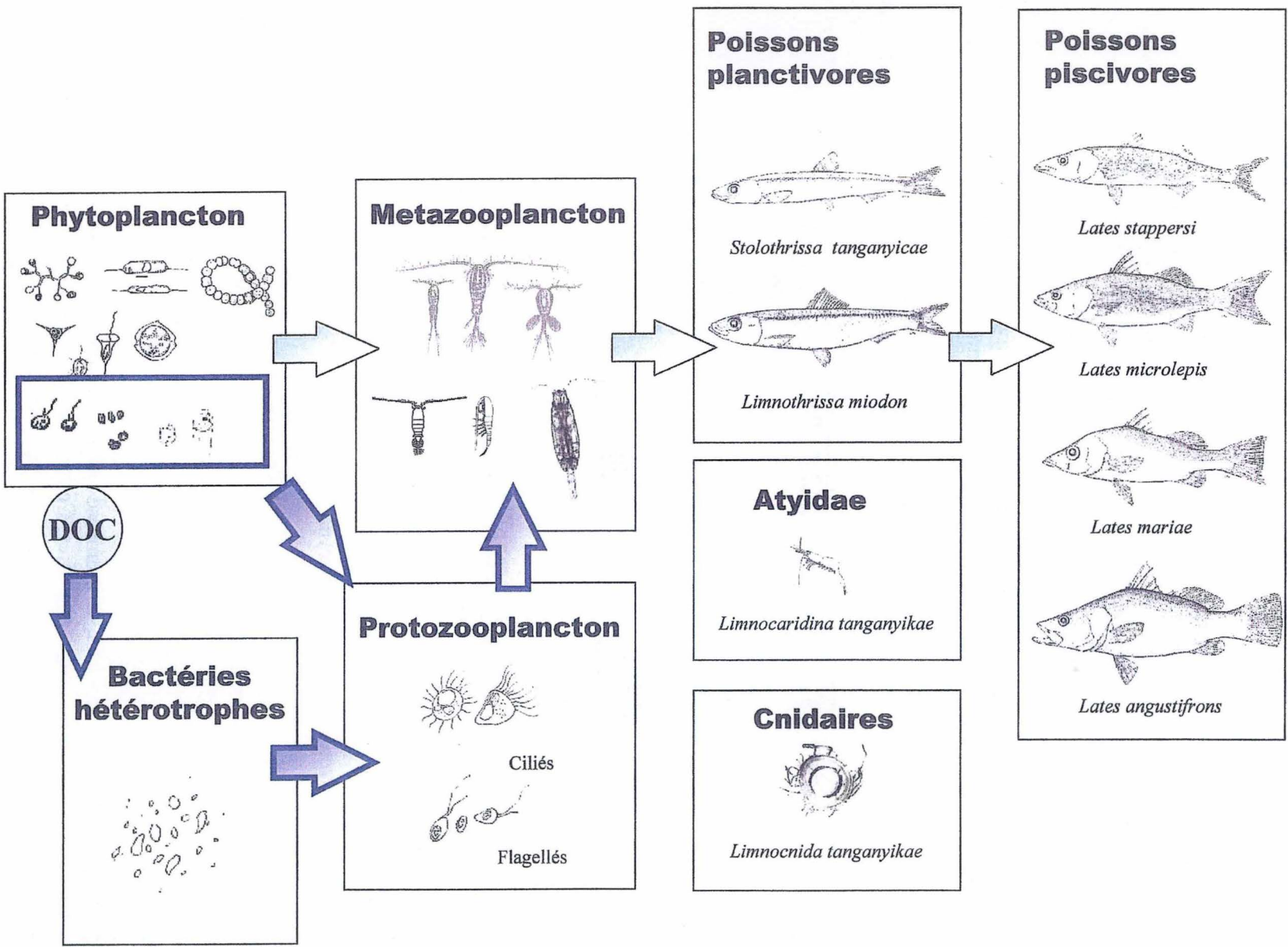
**Figure 19 : Profils verticaux de la production bactérienne ( $\text{mg C m}^{-3} \text{ j}^{-1}$  ; calculée à partir de l'incorporation de leucine radioactive) dans différentes parties du lac Tanganyika en octobre-novembre 1995 (Sarvala *et al.*, 1999)**

Compatible avec les résultats obtenus en avril-mai, la production du bactérioplancton s'élevait en moyenne à 21 % de la production phytoplanctonique estimée à partir de la chlorophylle *a* et du nombre moyen d'assimilation (Sarvala *et al.*, 1999).

La biomasse bactérienne, non limitée à la couche euphotique mais s'étendant de la surface à l'oxycline, pourrait agrandir la base de la pyramide trophique (Fig. 20 ; Pirlot *et al.*, 2005). En 2002, pour la couche de mélange du lac Tanganyika, les valeurs de biomasse bactérienne étaient comprises entre  $17,6$  et  $48,7 \text{ mg C m}^{-3}$ , avec une moyenne de  $26,8 \text{ mg C m}^{-3}$  (Pirlot *et al.*, 2006).

Dans le lac Tanganyika, la biomasse bactérienne dans la zone euphotique est proche de la biomasse des producteurs primaires. Comme les bactéries sont présentes partout dans le mixolimnion, comparé au phytoplancton limité à la zone euphotique (35-40 mètres), la biomasse bactérienne intégrée sur la colonne d'eau (100 mètres) donne des valeurs proches de la biomasse phytoplanctonique, indépendamment du bassin et de la saison. La présence de bactéries à la surface de l'oxycline suggère leur rôle central dans la réutilisation de substances nutritives, dans des processus biogéochimiques et dans la production d'éléments organiques (Pirlot *et al.*, 2005).

Figure 21 : Structure trophique du lac Tanganyika (flèches bleues claires : chaîne trophique classique ; flèches bleues foncées : boucle microbienne) (d'après Hecky et Fee, 1981)





A Mpulungu, la biomasse bactérienne a été estimée, sur toute la colonne d'eau jusqu'à 100 mètres de profondeur, à  $0,84 \text{ g C m}^{-2}$  durant la saison des pluies et à  $2,27 \text{ g C m}^{-2}$  durant la saison sèche (Pirlot *et al.*, 2005).

Beaucoup de données concernant la biomasse bactérienne proviennent des milieux côtiers. Dans les eaux de surface côtières, les bactéries hétérotrophes constituent généralement de 5 à 20 % de la biomasse microbienne totale avec le phytoplancton formant le reste de la biomasse (Fuhrman *et al.*, 1980).

Le rapport de la biomasse bactérienne à la biomasse phytoplanctonique est plus grand dans les eaux oligotrophes que dans les eaux eutrophes parce que la biomasse bactérienne augmente plus lentement que celle du phytoplancton le long d'un gradient trophique (Cole *et al.*, 1988). Dans les milieux oligotrophes, la production bactérienne et la respiration peuvent approcher celles de la production primaire (Cole, 1999, *in* Biddanda *et al.*, 2001).

D'autres études (Simon *et al.*, 1992 ; Gasol *et al.*, 1997) ont montré que les eaux oligotrophes ont une biomasse hétérotrophe relativement haute comparée aux autotrophes, alors que les eaux eutrophes ont une biomasse hétérotrophe relativement basse comparée aux autotrophes (Biddanda *et al.*, 2001).

En ce qui concerne l'abondance des bactéries dans le lac Tanganyika, Pirlot *et al.* (2005) rapportent des valeurs allant de  $2,28$  à  $3,36 \times 10^6$  cellules  $\text{ml}^{-1}$  dans la zone de mélange sauf à Mpulungu où les valeurs atteignent  $5,30 \pm 0,31 \times 10^6$  cellules  $\text{ml}^{-1}$ . Hecky *et al.* (1978) proposent, quant à eux, des valeurs moyennes de  $8,9 \pm 3,65 \times 10^5$  cellules  $\text{ml}^{-1}$  pour le lac entier et de  $7,2 \pm 1,5 \times 10^5$  cellules  $\text{ml}^{-1}$  pour le bassin Sud.

Dans les lacs oligotrophes, des efficacités de croissance bactérienne de 20 à 26 % ont été observées (Tranvik, 1988). Cole *et al.* (1989) observent, quant à eux, des efficacités de croissance bactérienne allant de moins de 10 % à plus de 60 % (Kroer, 1993).

### 3.2.3. La boucle microbienne

Les processus microbiens ainsi que les flux d'énergie impliqués dans le « recyclage » de la matière organique dissoute (DOM) provenant de l'excrétion phytoplanctonique ou liés à la chaîne alimentaire classique ont été rassemblés sous le nom de boucle microbienne (Azam *et al.*, 1983). Les composants clés de la boucle microbienne incluent le pico- et le nanoplancton hétérotrophe et autotrophe, les microflagellés, les ciliés et le microzooplancton. Puisque la plupart des membres de cette communauté microbienne ne sédimentent pas réellement, le carbone excrété à partir de la communauté microbienne métaboliquement active est recyclé à l'intérieur de la zone pélagique et est potentiellement disponible pour les plus grands consommateurs (Carpenter, 1988).

L'importance de la boucle microbienne en parallèle à la chaîne alimentaire classique émerge dans beaucoup d'études. Dans la boucle microbienne (Fig. 21), le picoplancton bactérien et l'ultraplancton, c'est-à-dire le plancton de taille comprise entre 1 et 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, sont consommés par les flagellés hétérotrophes et les ciliés (Sieburth, 1985, *in* Zlotnik & Dubinsky, 1989). Ces protozoaires sembleraient alors devenir la nourriture des copépodes (Robertson, 1983, *in* Zlotnik & Dubinsky, 1989).

Des études récentes ont montré que le nombre de bactéries et leur activité étaient hautement corrélés à la production et à la biomasse phytoplanctoniques (Shortreed &

Stockner, 1986, *in* Carpenter, 1988). Les bactéries peuvent constituer plus de 50 % de la biomasse du pico- et du nanoplancton dans les lacs (Caron *et al.*, 1985, *in* Carpenter, 1988). Le plus omniprésent des composants du picophytoplancton, composant commun de la biomasse microbienne de presque tous les lacs, est la cyanobactérie chroococcoïde *Synechococcus* spp. (Carpenter, 1988).

La proportion élevée de picoplancton auto- et hétérotrophe dans les milieux aquatiques oligotrophes a une conséquence importante : les bactéries sont capables, de part leur grand rapport surface : volume, d'assimiler l'azote et le phosphore dissous à de très faibles concentrations, ce qui a pour effet de conserver la majeure partie des nutriments limitants dans l'épilimnion et de minimiser les pertes vers l'hypolimnion et les sédiments (Azam *et al.*, 1983). Puisque les bactéries ont la possibilité d'entrer en compétition avec le phytoplancton pour le phosphore à de faibles concentrations (Currie & Kalff, 1984), il existe un potentiel pour le développement d'un large stock de carbone, de phosphore et d'autres nutriments qui sont retenus dans la biomasse bactérienne. Cependant, à cause d'une prédation active par les flagellés (Azam *et al.*, 1983), les ciliés, le microzooplancton et quelques cladocères, les nutriments et les DOM sont recyclés par ces composants hétérotrophes actifs de la chaîne alimentaire et le carbone organique dissous ainsi partiellement recyclé est disponible pour la chaîne alimentaire conventionnelle (Carpenter, 1988).

Selon Azam *et al.* (1983), les flux de carbone et ceux des nutriments à l'intérieur de la communauté bactérienne sont étroitement couplés et le comportement dynamique de la boucle microbienne est le résultat de 3 processus : le commensalisme (production de DOM par le phytoplancton et utilisation par les bactéries), la compétition (pour les nutriments entre les bactéries et le phytoplancton, elle est influencée par la disponibilité du substrat) et la prédation (par les flagellés, les ciliés et le microzooplancton) (Carpenter, 1988 ; Azam *et al.*, 1983). Suite au caractère potentiel de ces processus à faciliter la croissance et la production de tous les composants de la communauté pélagique, on peut se demander pourquoi les processus de la boucle microbienne jouent un rôle si important dans les systèmes aquatiques, spécialement dans les systèmes oligotrophes. Dans de tels écosystèmes presque dépourvus en nutriments, la rétention des DOM et le recyclage des nutriments peu abondants dans la zone euphotique sont cruciaux pour supporter la productivité de l'écosystème (Carpenter, 1988).

Bien que ceci reste à prouver, la boucle microbienne aurait aussi un rôle important, à l'oxycline, dans le réseau alimentaire pélagique des systèmes oligotrophes (Coulter, 1991). Ceci mènerait à des coûts de respiration exagérés jusqu'à un point tel que ces systèmes agissent comme des sources nettes de dioxyde de carbone pour l'atmosphère (del Giorgio *et al.*, 1996, *in* Sarvala *et al.*, 1999).

Avec l'apparition du concept de boucle microbienne, il y a une preuve que les protistes hétérotrophes sont omniprésents et comprennent une fraction de la biomasse du plancton dans les systèmes aquatiques. Par conséquent, les interactions dans les réseaux trophiques aquatiques sont maintenant reconnues comme étant fortement dynamiques et beaucoup plus complexes que ce qui était pensé précédemment (Pirlot *et al.*, 2005).

## 4. Objectifs du travail

O'Reilly *et al.* (2003) ont suggéré qu'une des conséquences du réchauffement climatique serait la diminution de la productivité du lac Tanganyika. Pour effectuer les liens possibles entre réchauffement climatique et productivité, d'autres études sur l'écologie du phytoplancton, à la base de la chaîne trophique, ont également été réalisées dans le cadre des projets CLIMLAKE et CLIMFISH. Ces deux projets, réalisés à deux stations (Kigoma et Mpulungu), étaient axés sur les effets des changements climatiques sur l'écologie du lac Tanganyika et la pêche à cet endroit.

Jusqu'à présent, beaucoup d'études réalisées au lac Tanganyika se sont focalisées sur le milieu pélagique. Les estimations de production primaire ont déjà été réalisées auparavant par Hecky & Fee (1981) et par Sarvala *et al.* (1999). On connaît également la contribution de la fraction picoplanctonique à la biomasse et à la production planctoniques totales. Le picoplancton semble représenter une part importante de la biomasse planctonique et il serait donc intéressant d'en savoir plus sur son rôle au sein du réseau trophique dans le lac Tanganyika. Les estimations de production et de biomasse bactériennes ont également déjà été réalisées pour établir les liens éventuels entre production phytoplanctonique et production bactérienne.

La comparaison « pélagique – côtier » est déjà étudiée et bien connue dans certains milieux marins mais n'a pas encore été étudiée pour le lac Tanganyika. C'est pourquoi, au cours de ce mémoire, nous avons décidé de réaliser des prélèvements pélagiques et côtiers pour permettre une comparaison de ces deux environnements. Nous avons donc réalisé, d'une part, des mesures de production primaire, de production primaire fractionnée et de production bactérienne et, d'autre part, une approche génétique en parallèle pour ces deux milieux.

Les productions primaire et bactérienne ont été mesurées en vue d'établir un lien éventuel entre celles-ci et également en vue d'une comparaison « pélagique – côtier ». La production primaire fractionnée a été mesurée pour nous permettre d'en savoir plus sur le rôle du picoplancton dans la chaîne trophique dans ces deux milieux et plus particulièrement en milieu côtier où peu de choses sont actuellement connues.

L'approche génétique se focalise essentiellement sur le picoplancton autotrophe. Elle vise la détermination des différences au niveau de la diversité des picocyanobactéries entre les deux milieux étudiés. Elle permettrait également, à partir des séquences obtenues, de concevoir des sondes spécifiques fluorescentes pouvant être utilisées dans la technique du FISH (Fluorescent In-Situ Hybridization). Cette dernière permettrait de déterminer les liens phylogénétiques possibles entre les populations du lac Tanganyika et celles du lac Kivu.

# Matériel et méthodes

## 1. Site d'échantillonnage

Le site d'échantillonnage choisi pour répondre à la problématique de notre étude est le même que celui choisi par les projets CLIMLAKE et CLIMFISH (08°43,98' S, 31°02,43' E) dans le bassin Sud du lac Tanganyika, au large de Mpulungu (Zambie).

Les prélèvements d'eau et les mesures des paramètres physico-chimiques ont été réalisés à quatre reprises (entre le 24/02/07 et le 09/03/07), à l'aide de deux bouteilles Van Dorn, en milieu pélagique et côtier. Ces divers échantillonnages ont été effectués tous les 10 mètres (jusqu'à 60 mètres) et tous les 20 mètres (jusqu'à 100 mètres); un mélange pélagique (7 litres de 0, 10, 20 et 30 mètres) et un mélange côtier ont également été réalisés.

Pour chaque profondeur et en vue d'analyses ultérieures, les échantillons ont été traités de diverses manières : mesures physico-chimiques, dosage des nutriments, incubation en présence de  $^{14}\text{C}$  dans des bouteilles sombres pour l'estimation de la production primaire, incubation en présence de  $^{14}\text{C}$  dans des bouteilles transparentes pour l'estimation de la production primaire fractionnée, filtrations permettant d'estimer la biomasse et l'abondance relative des différentes classes d'algues, analyse des pigments en HPLC, estimation de la production et de l'abondance bactériennes.

## 2. Analyses physico-chimiques

### 2.1. Température et oxygène

Les mesures de température et d'oxygène ont été réalisées grâce à une sonde YSI modèle 58 permettant de connaître successivement la température ( $^{\circ}\text{C}$ ), la quantité d'oxygène dissous ( $\text{mg l}^{-1}$ ) et le pourcentage de saturation en oxygène avec des précisions respectives de  $0,3^{\circ}\text{C}$ ,  $0,03 \text{ mg l}^{-1}$  et de  $0,3 \%$ . Dans notre cas, ces mesures ont été enregistrées tous les 5 mètres jusqu'à une profondeur de 90 mètres pour le milieu pélagique et pour le mélange en milieu côtier.

### 2.2. pH et conductivité

Ces mesures ont été obtenues grâce au pHmètre WTW modèle pH 323 et au conductivimètre HANNA modèle HI 8033. La conductivité de l'eau s'exprime en micro Siemens par centimètre à  $25^{\circ}\text{C}$  ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ).

### 2.3. Transparence de l'eau

Il existe deux méthodes différentes permettant d'estimer la transparence de l'eau : le disque de Secchi et le quantamètre.

Le disque de Secchi est un disque de couleur blanche permettant de réfléchir la lumière. La profondeur de disparition de ce disque correspond à environ 15 % de l'intensité lumineuse à la surface.

Le quantamètre Li-Cor LI 1400 permet de mesurer le rapport entre l'intensité lumineuse à une profondeur donnée et celle à la surface de l'eau. Cet appareil est composé d'une sonde externe mesurant l'irradiance en surface ( $I_0$ ) et d'une sonde submersible permettant de mesurer l'irradiance sous la surface de l'eau ( $I_z$ ). Dans notre cas, les mesures ont été réalisées tous les 5 mètres jusqu'à une profondeur de 30 mètres en milieu pélagique ( $z = 5, 10, 15, \dots, 30$ ) et tous les mètres jusqu'à 5 mètres de profondeur en milieu côtier ( $z = 1, 2, \dots, 5$ ).

Le coefficient d'extinction lumineuse  $k$  peut être calculé sur base des mesures réalisées à l'aide du Li-Cor :

$$k = \frac{\ln \frac{I_z}{I_0}}{z}$$

Une fois  $k$  déterminé, on peut connaître la profondeur de la zone photique dont la limite inférieure correspond à 1 % de l'irradiance en surface ( $I_0$ ) au moyen de la formule suivante :

$$Z_{eu} = \frac{\ln 0,01}{k}$$

## 2.4. Alcalinité

Les mesures d'alcalinité ont été réalisées sur les mélanges pélagique et côtier. La méthode utilisée est un titrage de type colorimétrique : un indicateur coloré est ajouté à 100 ml d'eau du mélange pélagique ou côtier suivant le cas et la neutralisation est réalisée par ajout d'HCl 0,1 N.

## 2.5. Nutriments

Tous les dosages des nutriments ont été effectués à partir d'échantillons d'eau récupérés lors de la filtration sur filtre en fibre de verre Macherey-Nagel GF/5 d'une porosité moyenne de 0,7  $\mu\text{m}$  pour les profondeurs de 0, 20, 40, 60, 80 et 100 mètres. La récupération de cette eau a été réalisée en parallèle à la filtration pour la mesure de la chlorophylle  $a$  totale. Une droite d'étalonnage a également été réalisée pour chaque dosage.

### 2.5.1. Azote

Cet élément peut être présent sous trois formes dans les échantillons : les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) et l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Celles-ci ont toutes trois été dosées en laboratoire.

Les nitrites ont été dosés selon un dosage colorimétrique à la sulfanilamide. Le principe consiste en une diazotation de la sulfanilamide en milieu acide en présence de la N-(1-naphtyl)éthylènediamine ce qui résulte en un complexe coloré pourpre. Les mesures d'absorbance ont été réalisées sous une longueur d'onde de 540 nm dans des cellules de 50 mm. Un rapport à la droite d'étalonnage permet de connaître directement la teneur en  $\text{NO}_2$  ( $\mu\text{g N-NO}_2 \text{ l}^{-1}$ ).

Pour les nitrates, une réduction des nitrates en nitrites a été réalisée par agitation sur du cadmium spongieux et un dosage colorimétrique a également été réalisé par lecture de l'absorbance dans des cellules de 10 mm. La valeur des nitrates a été obtenue en soustrayant celle des nitrites de la valeur d'absorbance mesurée à 540 nm. La droite d'étalonnage permet de connaître la teneur en  $\text{N-NO}_3^-$  ( $\text{mg N-NO}_3^- \text{ l}^{-1}$ ).

En ce qui concerne les ions ammonium, ils réagissent avec les ions hypochlorites, résultant de l'hydrolyse alcaline de dichloroisocyanurate de sodium, et avec le salicylate de sodium en présence de nitroprussiate de sodium (agissant comme catalyseur) pour former un composé de couleur verte. L'absorbance a été mesurée à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 655 nm dans des cellules de 50 mm (pour 0, 20, 40 mètres et côtier) et de 10 mm (pour 60, 80 et 100 mètres). La droite d'étalonnage permet d'obtenir la teneur en  $\text{N-NH}_4^+$  ( $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{l}^{-1}$ ).

### 2.5.2. Orthophosphates

A pH acide, les phosphates réagissent avec une solution de molybdate d'ammonium et de tartrate d'antimoine de potassium pour donner un composé qui, réduit par l'acide ascorbique, formera un complexe de couleur bleue. La mesure de l'absorbance a été réalisée à 885 nm dans des cellules de 50 mm (pour 0, 20, 40 mètres et côtier) et de 10 mm (pour 60, 80 et 100 mètres). La teneur en  $\text{PO}_4$ , exprimée en  $\mu\text{g P-PO}_4 \text{l}^{-1}$ , a été obtenue grâce à la droite d'étalonnage.

### 2.5.3. Silice

Ce dosage a été réalisé par détermination spectrophotométrique du bleu de molybdène après réduction de l'acide silicomolybdique en présence de silice. L'absorbance de la coloration bleue a été lue à 655 nm dans des cellules de 10 mm.

## 2.6. Dosage des CNP (Carbone, azote, phosphore)

Pour cette analyse, 4 litres d'eau des mélanges pélagique ou côtier ont été filtrés sur des filtres en fibre de verre Macherey-Nagel GF/5 grillés (passés au four à 600°C pour éliminer toute trace organique résiduelle).

A l'aide d'un analyseur élémentaire Carlo Erba NA1500, nous avons pu mesurer les contenus en carbone et en azote. Après ajout de persulfate de potassium et digestion à 120°C pendant 30 minutes, une mesure spectrophotométrique des orthophosphates permet la détermination des concentrations en phosphore intracellulaire.

## 3. Biomasse phytoplanctonique

La concentration en chlorophylle *a* est classiquement utilisée en limnologie comme en océanographie pour estimer la biomasse phytoplanctonique.

### 3.1. Chlorophylle *a* totale

Pour chaque profondeur, 4 litres d'eau ont été filtrés sur filtres GF/5 (porosité : 0,7  $\mu\text{m}$ ) qui ont été placés dans des cryotubes de 10 ml. Pour l'extraction des pigments, nous avons ajouté 6 ml d'acétone 90 % dans chaque tube et nous les avons placés dans le sonicateur durant 20 minutes avant de les mettre au congélateur durant 24 heures. Le lendemain, une seconde sonication de même durée a été réalisée avant de prélever les 2 ml de solution nécessaires à l'analyse en HPLC. Ceux-ci ont été conservés dans des fioles en verre sombre à -20° C.

	PERI	FUCO	NEO	VIOL	DDX	ALLO	LUT	ZEA	ECHIN	BECAR	Chb	Cha
chlorophytes	0,0000	0,0000	0,0407	0,0384	0,0000	0,0000	0,1155	0,0807	0,0000	0,0000	0,1789	1,0000
chrysophytes	0,0000	0,2140	0,0000	0,0702	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	0,3500	0,0000	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	1,0000
cyanobactéries_T1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,9746	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
cyanobactéries_T2	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,2000	0,2000	0,0000	0,0000	1,0000
diatomées	0,0000	0,8960	0,0000	0,0000	0,0414	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

PERI	péridinine
FUCO	fucoxanthine
NEO	néoxanthine
VIOL	violaxanthine
DDX	diadinoxanthine + diatoxanthine
ALLO	alloxanthine
LUT	lutéine
ZEA	zéaxanthine
ECHIN	échinénone
BECAR	a-carotène
Chb	Chlorophylle b
Cha	Chlorophylle a

Tableau 2 : Matrice initiale utilisée par CHEMTAX pour le calcul des biomasses des classes d'algues du lac Tanganyika



## 3.2. Chlorophylle *a* fractionnée

Premièrement, 4 litres d'eau des mélanges pélagique ou côtier ont été filtrés sur filtres de porosité 2  $\mu\text{m}$ . Le filtrat a ensuite été récupéré et refiltré sur filtres de porosité 0,2  $\mu\text{m}$ . Ce fractionnement permet de distinguer le phytoplancton de taille supérieure à 2  $\mu\text{m}$  de celui de taille comprise entre 2 et 0,2  $\mu\text{m}$ . Les filtres récupérés ont été traités de la même manière que celle citée au point 3.1. pour l'extraction des pigments.

## 3.3. Dosage des pigments chlorophylliens et caroténoïdes en HPLC

### 3.3.1. Analyse en HPLC

Les 2 ml d'extraits récupérés ont été refiltrés pour éliminer les impuretés restantes. Le système utilisé pour l'HPLC est composé d'un « Waters multisolvent delivery system », d'un injecteur automatique Waters et de deux détecteurs : un détecteur à barrettes de diodes Waters 996 et un fluorimètre Waters 470 (réglé pour la détection optimale des chlorophylles et de leurs dérivés). La colonne utilisée est une Waters Nova-Pak C18 d'une longueur de 25 cm et le volume injecté est de 50  $\mu\text{l}$ . Sur base d'injections de volumes croissants de solutions standards, la calibration peut être réalisée à partir de droites de calibration comportant 3 à 4 points. Les solutions standards sont en fait des pigments purifiés (chlorophylles et caroténoïdes) fournis par la firme DHI, Danemark. L'intégration est alors réalisée, à l'aide d'un logiciel nommé Millennium 2, sur des chromatogrammes à 436 nm. Les pigments contenus dans nos échantillons peuvent alors être identifiés, d'une part, par leur temps de rétention et, d'autre part, par la correspondance de leur spectre d'absorption à 436 nm avec ceux de pigments connus. Les concentrations des différents pigments sont exprimées en  $\mu\text{g l}^{-1}$  tout en tenant compte du volume initial d'eau filtrée.

### 3.3.2. Quantification de la biomasse des différentes classes algales

La quantification de la biomasse des différentes classes d'algues a été réalisée à l'aide du logiciel CHEMTAX mis au point par Mackey *et al.* (1996). Ce logiciel en langage MATLAB (The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts) utilise les pigments marqueurs des différentes classes algales pour en quantifier leur biomasse respective (Tableau 2). Idéalement, la méthode requiert, en plus de la chlorophylle *a*, deux autres pigments pour chaque classe algale. Cette méthode permet l'utilisation de marqueurs spécifiques mais aussi de marqueurs communs à plusieurs classes. A la place de simples rapports de pigments marqueurs, il utilise en fait un algorithme qui associe une matrice des rapports de pigments attendus pour plusieurs taxa à une matrice des rapports de pigments inconnus des échantillons (Mackey *et al.*, 1996).

## 3.4. Abondance et biovolume des picocyanobactéries

### 3.4.1. Microscopie à épifluorescence

Ce microscope ZEISS de type Axioskop muni d'une lampe à mercure permet, grâce à un jeu de différents filtres colorés de type 02 (G365, FT395, LP420), de visualiser la fluorescence rouge de la chlorophylle *a* (filtre vert) ainsi que la fluorescence orange de la phycoérythrine (filtre bleu). Des marqueurs ADN tels que le diamine-4',6-phénylindol

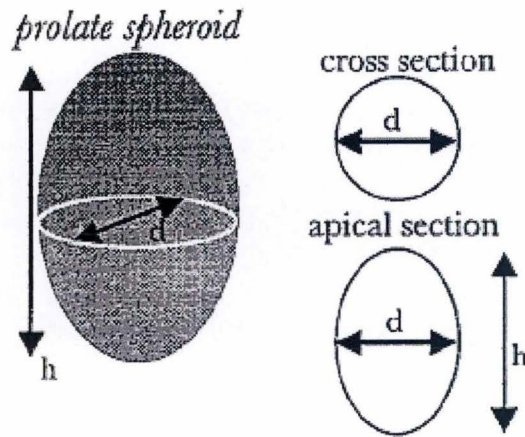


Figure 22 : Forme du sphéroïde allongé utilisé pour calculer le biovolume des cellules où h = axe majeur et d = axe mineur (Hillebrand *et al.*, 1999)

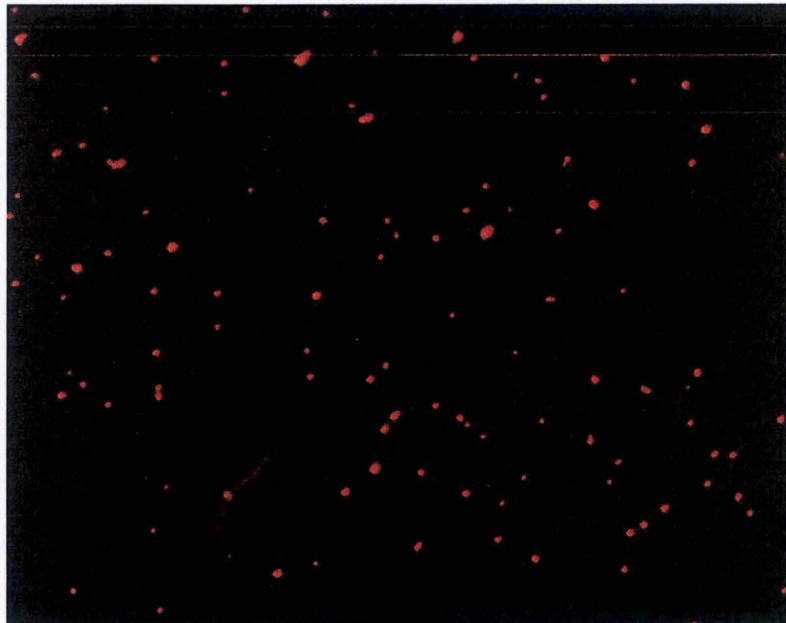


Figure 23 : Exemple de photographie prise en microscopie à épifluorescence lors des comptages des *Synechococcus* à 0 mètre au lac Tanganyika (Mpulungu) lors de la saison des pluies 2007

2-dichlorohydrate (DAPI) peuvent également être utilisés afin de pouvoir détecter les organismes dépourvus d'autofluorescence.

L'appareillage est doté d'une caméra ZEISS de type Axiocam directement reliée à un ordinateur possédant le programme KS300. Ce dernier permet d'observer en temps réel l'image renvoyée par le microscope et de réaliser des photographies de la surface du filtre. Sur base de ces images, il est possible de réaliser des comptages et des estimations de biovolume grâce à un programme spécifique au type d'organismes qui nous intéresse.

Le biovolume des cellules est calculé sur base de la formule du volume d'un sphéroïde allongé (Fig. 22) :

$$PSV = \pi \times (\text{axe mineur})^2 \times \left( \frac{\text{axe majeur}}{6} \right)$$

Les lames utilisées durant cette technique ont été réalisées sur le lieu d'échantillonnage. Tous les échantillons ont été filtrés sur filtre noir (porosité de 0,2 µm). Le volume filtré, pour les *Synechococcus*, était de 9 ml.

La réalisation des lames s'effectue une fois le filtre totalement sec. Celles-ci sont stockées à -20°C jusqu'à l'analyse.

Pour l'observation au microscope, la lame est déposée sous un objectif 100X pouvant être en contact avec de l'huile à immersion.

Pour pouvoir effectuer les comptages et comparer les résultats à ceux obtenus en cytométrie de flux, il est impératif que les organismes soient disposés de façon homogène sur le filtre. En fonction de la densité des organismes observés à la surface du filtre, une série de 10 à 15 photographies a été prise (Fig. 23).

### 3.4.2. Cytométrie de flux

La cytométrie de flux est une technique permettant le comptage et le tri de cellules contenues dans un échantillon en fonction de divers paramètres tels que la taille, la forme, la densité du cytosol, la granulométrie, la fluorescence ou l'autofluorescence. Dans notre cas, le comptage des *Synechococcus* se réalise selon la détection de l'autofluorescence de la phycoérythrine.

Tous les échantillons ont été fixés avec 0,4 ml de glutaraldéhyde froide 10 % et conservés à une température de -80°C.

Avant toute manipulation, une calibration du nombre de billes Polysciences Inc. (Warrington) par rapport au nombre de billes True Counts™ Controls (Becton Dickinson) a été réalisée grâce à un mélange de 10 µl de chaque billes dans 500 µl de Facs Flow, ceci afin de pouvoir utiliser uniquement les billes Polysciences pour l'analyse des échantillons.

Pour les *Synechococcus*, 500 µl des échantillons ont été prélevés et 5 µl de billes Polysciences y ont été ajoutés comme standard interne. Tous les échantillons ont ensuite été passés au cytomètre FACScalibur (Becton Dickinson). Ce dernier possède un laser émettant à 488 nm. Les échantillons ont été passés à grande vitesse (environ 46 µl min<sup>-1</sup>). L'acquisition des données et leur traitement ont été réalisés grâce aux logiciels CellQuest (Becton Dickinson) et WinMDI (Fig. 24a et 24b).

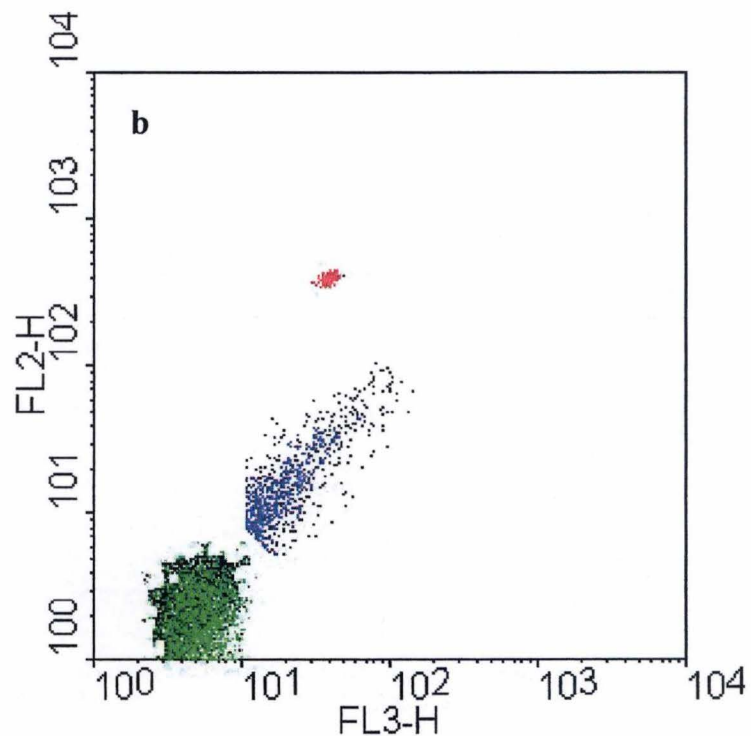
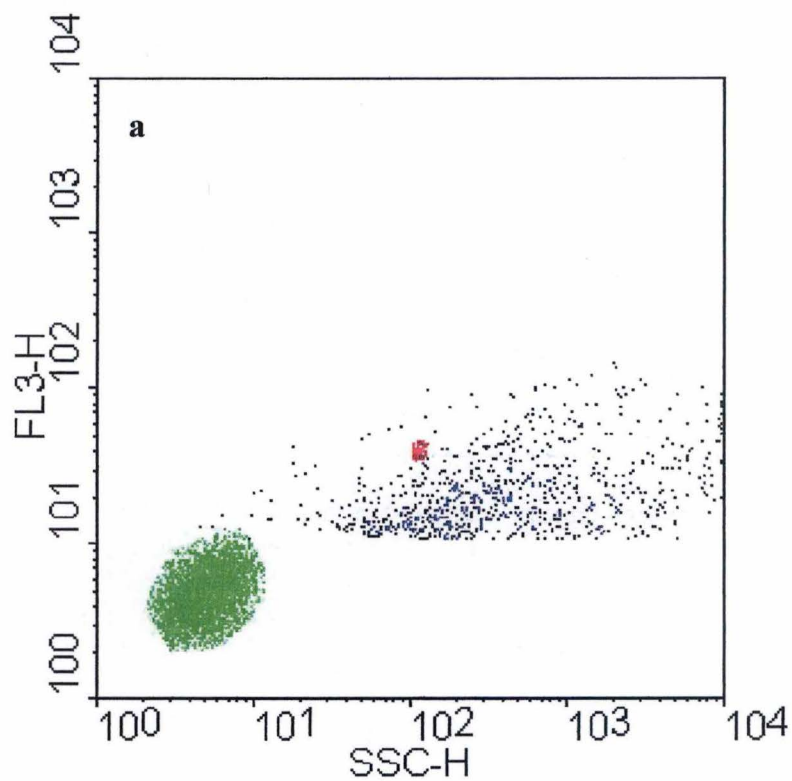


Figure 24a ; 24b : Exemple de cytogramme obtenu grâce au logiciel WinMDI pour les populations picocyanobactériennes à 0 mètre au lac Tanganyika en saison des pluies 2007 (Vert = *Synechococcus*, bleu = bruit de fond et rouge = billes)

### 3.5. Production primaire

La production primaire a été estimée par la technique d'incubation dans des bouteilles sombres et claires en présence de carbone radioactif ( $^{14}\text{C}$ ). Pour chaque sortie, nous avons rempli deux séries de 10 bouteilles avec respectivement 100 ml d'eau du mélange pélagique et 100 ml d'eau du mélange côtier. Les bouteilles préalablement numérotées et ayant reçu 1 ml de  $^{14}\text{C}$  (500  $\mu\text{Ci}$  par série) ont ensuite été placées dans des tubes numérotés correspondant à des intensités lumineuses différentes (soit 53,4 ; 52,3 ; 42,5 ; 24,2 ; 23,4 ; 21,3 ; 14,1 ; 5,7 ; 1,5 et 0 %). L'orgue lumineux a alors été placé sous la surface de l'eau pendant 2 heures. Simultanément, le Li-Cor enregistrait l'intensité lumineuse moyenne. A la fin du temps d'incubation, la production primaire a été stoppée par l'ajout de 2 ml de formol au pH du lac.

Avant filtration du contenu des 2 séries de bouteilles, nous avons prélevé au hasard, pour chaque série, 3 témoins. De chaque témoin nous avons prélevé 250  $\mu\text{l}$  que nous avons ajouté aux 250  $\mu\text{l}$  de phényléthylamine préalablement placés dans des fioles à scintillation. Ces témoins ont été conservés au congélateur. Les filtrations ont été réalisées sur des filtres de 0,2  $\mu\text{m}$  de porosité. Les filtres ont été rincés à l'HCl 0,1 N pour éliminer le carbone inorganique non assimilé puis ont été placés dans des fioles à scintillation et congelés pour l'analyse ultérieure. Après ajout de 5 ml de liquide scintillant « Lumasafe Plus », leur activité a été mesurée au compteur à scintillation Beckman LS 6000 SC.

#### 3.5.1. Calcul de l'assimilation du carbone

Pour ce calcul, il est admis que l'incorporation, par les organismes photosynthétiques, du carbone inorganique marqué est identique à celle du carbone inorganique non-marqué. Ceci peut s'écrire de la manière suivante :

$$\frac{{}^{14}\text{C}_{\text{assimilé}}}{{}^{14}\text{C}_{\text{total}}} = \frac{{}^{12}\text{C}_{\text{assimilé}}}{{}^{12}\text{C}_{\text{total}}}$$

De cette formule, on peut déduire que :

$${}^{12}\text{C}_{\text{assimilé}} = \frac{{}^{14}\text{C}_{\text{assimilé}}}{{}^{14}\text{C}_{\text{total}}} \times {}^{12}\text{C}_{\text{total}}$$

A partir de la valeur calculée du carbone 12 inorganique total assimilé et des différentes activités mesurées, il est possible de calculer la concentration en carbone assimilé par litre et par heure :

$$C_{\text{assimilé}} = \frac{A_f - B}{A_i \times V} \times {}^{12}\text{C} \times 1,06 \times \frac{1}{t}$$

Dans cette formule :

- $A_f$  est l'activité du filtre correspondant à l'échantillon (dpm).
- $B$  est l'activité du filtre correspondant à la bouteille sombre (dpm).
- $A_i$  est la moyenne de l'activité des témoins (dpm ml<sup>-1</sup>).
- $V$  est le volume de l'échantillon filtré (ml).
- $^{12}C$  est le carbone inorganique total assimilable (mg l<sup>-1</sup>).
- 1,06 est le facteur de correction pour la discrimination isotopique.
- $t$  est le temps (h).

### 3.5.2. Calcul de la production primaire

A l'aide du programme informatique Statistica, les paramètres  $P_{\max}$  et  $I_k$  ont été ajustés aux points expérimentaux à partir de l'équation de Vollenweider (1965) :

$$P_{(z,t)} = 2 \times P_{\max} \times \frac{\frac{I_{(z,t)}}{2 \times I_k}}{\left(1 + \frac{I_{(z,t)}}{2 \times I_k}\right)^2}$$

Dans cette formule :

- $P_{(z,t)}$  est le taux de photosynthèse à la profondeur  $z$  au temps  $t$  ( $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).
- $I_{(z,t)}$  est la PAR à la profondeur  $z$  et au temps  $t$  ( $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).
- $P_{\max}$  est l'activité photosynthétique à saturation par la lumière ( $\mu\text{g C } (\mu\text{g Chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).
- $I_k$  est l'intensité lumineuse au seuil de saturation ( $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

### 3.5.3. Calcul de la production brute journalière (PBJ)

L'estimation de la production brute journalière (PBJ) sur l'entièreté de la colonne d'eau se fait sur base des variations journalières d'éclairement. La formule d'intégration complète est la suivante :

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

Dans cette formule :

- $d$  est la profondeur de la colonne d'eau.
- $r$  et  $s$  sont les heures de lever et de coucher du soleil.

Une formule simplifiée (Talling, *in* Kirk, 1983) donne une bonne évaluation de la production primaire sans devoir procéder à une intégration complète :

$$PBJ = \frac{P_{\max} \times Chla}{k} \times \ln \left( 2 \times \frac{I_0}{I_k} \right) \times \Delta t \times 0,9$$

Dans cette formule :

- $I_0$  est l'intensité lumineuse moyenne sur la journée ( $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).
- $\Delta t$  est la durée d'éclairement au cours d'une journée (12 h).
- $P_{\max}$  est l'activité photosynthétique au seuil de saturation ( $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).
- $Chla$  est la concentration en chlorophylle *a* ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ).
- $k$  est le coefficient vertical de la lumière dans la colonne d'eau ( $\text{m}^{-1}$ ).
- $I_k$  est l'intensité lumineuse au seuil de saturation ( $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

### 3.6. Production primaire fractionnée

Pour chaque sortie, nous avons prélevé 750 ml d'eau du mélange pélagique et 750 ml d'eau du mélange côtier que nous avons répartis dans deux bouteilles transparentes, contrairement à la production primaire totale où les bouteilles correspondent à des intensités lumineuses différentes. A chaque bouteille, nous avons ajouté 500  $\mu\text{Ci}$  de  $^{14}\text{C}$ . L'incubation est réalisée sous la surface de l'eau durant 2 heures. A la fin du temps d'incubation, la production primaire fractionnée a été arrêtée par l'ajout de 15 ml de formol au pH du lac.

Des 750 ml, nous avons prélevé 600 ml : 300 ml ont été filtrés sur un filtre de porosité 0,2  $\mu\text{m}$  (activité totale) et 300 ml ont été filtrés sur un filtre de porosité 2  $\mu\text{m}$  (activité de la fraction non-picoplanctonique). Le filtrat passé sur 2  $\mu\text{m}$  a été récupéré et filtré sur un filtre de porosité 0,2  $\mu\text{m}$  (activité de la fraction picoplanctonique). Tous les filtres ont été rincés à l'HCl 0,1N, placés dans des fioles à scintillation et congelés en vue de leur analyse ultérieure, identique à celle décrite précédemment.

## 4. Abondance et production bactériennes

### 4.1. Abondance du bactérioplancton

#### 4.1.1. Microscopie à épifluorescence

L'appareillage et la méthode utilisés sont les mêmes que ceux cités précédemment mis à part que le comptage des bactéries se réalise selon la détection de la fluorescence du DAPI. Les lames utilisées durant cette technique ont été réalisées sur le lieu d'échantillonnage. Tous les échantillons ont été filtrés sur filtre noir (porosité de 0,2  $\mu\text{m}$ ). Pour les bactéries, le volume filtré était de 1,8 ml. Avant filtration, les échantillons ont été marqués avec du DAPI (5  $\mu\text{l ml}^{-1}$ ). La réalisation des lames s'effectue une fois le filtre totalement sec et les lames sont stockées à  $-20^\circ\text{C}$  jusqu'à l'analyse.

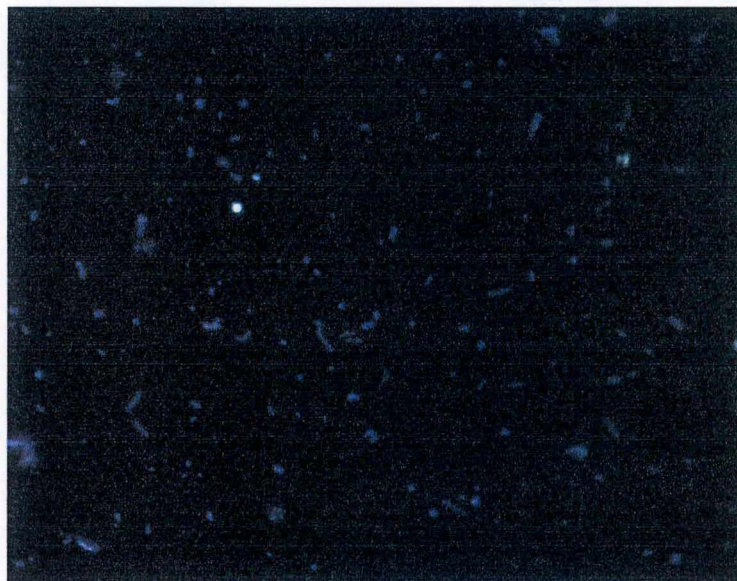


Figure 25 : Exemple de photographie prise en microscopie à épifluorescence lors des comptages des bactéries hétérotrophes à 0 mètre au lac Tanganyika (Mpulungu) lors de la saison des pluies 2007

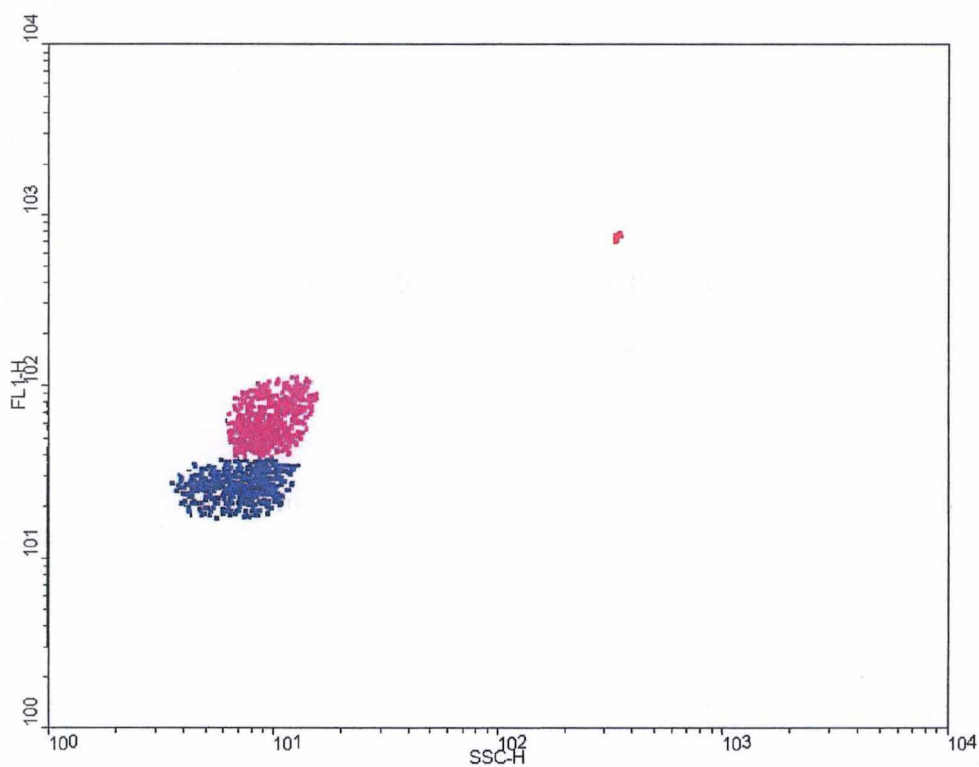


Figure 26 : Exemple de cytogramme obtenu grâce au logiciel WinMDI pour les populations bactériennes à 0 mètre au lac Tanganyika en saison des pluies 2007 (Bleu = LNA, mauve = HNA et rouge = billes)



A nouveau, après observation sous un objectif 100X pouvant être en contact avec l'huile, une série de 10 à 15 photographies (Fig. 25) est réalisée pour pouvoir effectuer les comptages et estimer les biovolumes par la même formule que celle utilisée pour les picocyanobactéries.

#### 4.1.2. Cytométrie de flux

L'appareillage et la méthode utilisés ici sont les mêmes que ceux décrits plus haut. Après fixation des échantillons, congélation des échantillons et calibration des billes, 400 µl de chaque échantillon ont été marqués à l'aide de 4 µl de SYBRGreen (Invitrogen) puis laissés au noir durant 10 minutes. Une fois l'incubation terminée, les échantillons ont été dilués adéquatement avant l'ajout de 10 µl de billes Polysciences à chaque tube.

Ensuite, tous les échantillons ont été passés au cytomètre FACScalibur (Becton Dickinson) mais cette fois à faible vitesse (environ 18 µl min<sup>-1</sup>). Les bactéries hétérotrophes ont été détectées par leur signature dans le cytogramme SSC en fonction de FL1 (fluorescence verte) et ont été séparées en deux populations (Fig. 26) : HNA (bactéries en haut contenu en acides nucléiques) et LNA (bactéries en faible contenu en acides nucléiques) (Gasol & del Giorgio, 2000, *in* Gasol, 1999). L'acquisition des données et leur traitement ont également été réalisés grâce aux logiciels CellQuest (Becton Dickinson) et WinMDI.

#### 4.2. Production bactérienne

L'estimation de la production bactérienne se base sur la quantification du taux d'incorporation de thymidine tritiée dans l'ADN.

Pour chaque sortie, nous avons rempli 2 séries de 4 flacons avec, respectivement, 20 ml d'eau du mélange pélagique et 20 ml d'eau du mélange côtier. A chaque flacon de chaque série, nous avons ajouté respectivement 100 µl, 200 µl, 400 µl et 800 µl de <sup>3</sup>H-Thymidine. Une incubation au noir et à une température de 27°C est alors nécessaire durant 2 heures. A la fin de l'incubation, la production bactérienne a été arrêtée en ajoutant, dans chaque flacon, 10 ml de TCA 15 %. Les flacons ont ensuite été placés au réfrigérateur pendant une durée minimale de 30 minutes avant que leur contenu soit filtré sur un filtre de porosité 0,2 µm. Les filtres ont été rincés 3 fois au TCA 5 %, transférés dans des fioles à scintillation et placés au congélateur en vue de leur analyse ultérieure.

##### 4.2.1. Calcul de l'assimilation de <sup>3</sup>H-Thymidine

La radioactivité incorporée est mesurée sur le filtre par scintillation liquide (scintillateur Beckman LS 6000 SC) en présence de 5 ml de « Filter Count » (Lumasafe Plus). La formule suivante permet de calculer la vitesse d'incorporation ( $v$ ) de la thymidine :

$$v_{(nmoles.l^{-1}.h^{-1})} = \frac{DPM_{incorporée}}{DMP_{ajoutée}} \times nmoles_{ajoutées} \times t^{-1} \times \left( \frac{1000}{V} \right)$$

Dans cette formule :

- $DPM_{incorporée}$  est la radioactivité incorporée dans la fraction insoluble au TCA froid (dpm).
- $DPM_{ajoutée}$  est la radioactivité ajoutée à l'échantillon sous forme de  $^3\text{H}$ -Thymidine (dpm).
- $nmoles_{ajoutées}$  est la quantité totale de  $^3\text{H}$ -Thymidine ajoutée (nmol).
- $t$  est le temps d'incubation (h).
- $V$  est le volume d'échantillon incubé en présence de  $^3\text{H}$ -Thymidine (ml).

#### 4.2.2. Calcul de la production bactérienne

Une fois les taux d'incorporation de la  $^3\text{H}$ -Thymidine connus, il faut les convertir en production cellulaire c'est-à-dire en nombre de cellules produites par litre et par heure (nombre de cellules produites  $\text{l}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). Pour ce faire, nous utilisons un facteur de conversion (cellules produites par mole de thymidine incorporée dans la fraction insoluble au TCA froid) qui est de  $0,5 \times 10^{18}$  cellules par mole de thymidine incorporée (Pirlot *et al.*, 2006). Le calcul de la production bactérienne ( $\mu\text{g C}$  de biomasse produite  $\text{l}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) se fait à partir de la production cellulaire en multipliant celle-ci par le contenu moyen en carbone des cellules bactériennes, obtenu par application d'un facteur de conversion de 10 aux biovolumes estimés par microscopie à épifluorescence.

### 5. Diversité des picocyanobactéries

#### 5.1. Extraction et purification d'ADN

##### 5.1.1. Principe

Pour chaque profondeur, pour le mélange pélagique et pour le mélange côtier, nous avons filtré 1 litre d'eau sur un filtre polycarbonate de  $2 \mu\text{m}$  (fraction non-picoplanctonique). Chaque filtre a été conservé à  $-20^\circ\text{C}$  dans un tube Falcon contenant 2 ml de tampon de lyse (40 mM EDTA, 400 mM NaCl, 0,75 M saccharose, 50 mM Tris HCl pH 8,3). Le filtrat a ensuite été récupéré et filtré sur un filtre de porosité  $0,2 \mu\text{m}$ . Les filtres ont été stockés de la même manière.

L'extraction d'ADN se réalise en trois étapes : la lyse enzymatique, l'extraction des protéines et la précipitation d'ADN. L'ADN extrait est ensuite purifié grâce au kit Wizard DNA Clean-Up System (Promega, USA).

##### 5.1.2. Méthode

Pour la lyse enzymatique,  $50 \mu\text{l}$  de lysozyme ( $50 \text{mg ml}^{-1}$ ) ont été ajoutés directement au tampon de lyse baignant le filtre. Le tube a ensuite été incubé à  $37^\circ\text{C}$  pendant 20 minutes. Après addition de  $100 \mu\text{l}$  de SDS à 10 % et de  $30 \mu\text{l}$  de protéinase K ( $20 \text{mg ml}^{-1}$ ), le tube a été incubé à  $37^\circ\text{C}$  durant 2 heures. Après incubation, les tubes ont été placés au bain-marie pour atteindre une température de  $56^\circ\text{C}$ . L'ajout de 2 ml de phénol/chloroforme/alcool isoamylique (25:24:1) à  $56^\circ\text{C}$  permet l'extraction des protéines. Après incubation sous hotte à  $56^\circ\text{C}$  durant 10 minutes, les tubes Falcon ont été centrifugés 20 minutes à 4500 rpm. Le surnageant de chaque tube a ensuite été transféré dans des nouveaux tubes Falcon contenant 2 ml de chloroforme/alcool isoamylique (24:1). Après incubation durant 10 minutes à  $56^\circ\text{C}$ ,

les tubes ont été centrifugés à 4500 rpm pendant 20 minutes. Après cette opération, le surnageant de chaque échantillon est réparti dans 3 eppendorfs de 1,5 ml (450 µl par eppendorf) pour réaliser la précipitation d'ADN. A chaque tube, nous avons ajoutés 45 µl de NaAc 3M et 990 µl d'éthanol pur. Nous avons laissé précipiter à -20°C durant toute une nuit avant de centrifuger à 13000 rpm durant 20 minutes. Une fois le surnageant éliminé, nous avons ajouté 1 ml d'éthanol 70 % au culot et nous avons centrifugé le tout pendant 10 minutes à 13000 rpm. A nouveau, le surnageant a été enlevé et le culot a ensuite été resuspendu dans 105 µl d'eau milliQ. La purification a été réalisée en suivant les instructions du fabricant : 1 ml de résine (thiocyanate de guanidium) a été ajouté à chaque échantillon. Le contenu du tube est ensuite déposé sur une matrice de silice et rincé à l'isopropanol 80 %. L'ADN purifié est alors récupéré par élution dans 50 µl de TE<sup>-4</sup>, et conservé à -20°C.

## 5.2. PCR (Polymerase Chain Reaction)

### 5.2.1. Principe

Cette technique en 3 étapes permet l'amplification exponentielle d'un fragment d'ADN d'intérêt. Deux amorces s'hybrident au fragment d'ADN à amplifier, des dNTP et une ADN polymérase thermostable permettant la répllication du brin d'ADN cible à partir des amorces et des dNTP. Les 3 étapes sont la dénaturation (94 - 95°C pour permettre la séparation des doubles brins d'ADN en simples brins et la fixation des amorces), l'hybridation (entre 40 et 70°C pour permettre l'hybridation des amorces aux simples brins d'ADN) et l'élongation (la température appliquée dépendra de l'enzyme utilisée).

### 5.2.2. Méthode

Le mix PCR a été réalisé en mélangeant 5 µl de tampon pour la Super Taq Plus (10x), 5 µl de BSA (Bovine Serum Albumine ; 20 mg ml<sup>-1</sup>), 1 µl de dNTP (10 mM), 1,25 µl de chaque amorce (20 µM), 0,2 µl de Super Taq Plus (5U µl<sup>-1</sup>). Le volume est porté à 50 µl par l'ajout d'eau.

Nous avons ensuite réparti 49,5 µl de mix PCR dans chaque tube PCR. A chaque tube, à l'exception du contrôle négatif, nous avons ajouté 0,5 µl d'ADN. Les tubes ont alors été placés dans un thermocycleur Mastercycler Gradient (Eppendorf) et le programme adéquat a été sélectionné.

## 5.3. Clonage

### 5.3.1. Principe

Le clonage est une technique permettant d'isoler et d'amplifier les constituants d'un mélange d'amplicons issus de la PCR à l'aide de plasmides linéarisés liés de manière covalente à une topoisomérase à l'extrémité 3'. La liaison entre le fragment et l'extrémité 3' désoxythymidine du vecteur linéarisé se fait grâce à l'ajout de désoxyadénosines (dATP) (QIAGEN® A-Addition Kit). Les plasmides utilisés contiennent les propriétés nécessaires à la sélection des bactéries recombinantes à savoir un gène de résistance à l'ampicilline et un site de clonage situé dans la région du gène *lacZ* codant pour la β-galactosidase. Le premier permet de sélectionner les bactéries ayant le plasmide et donc capables de se développer sur un milieu contenant de l'ampicilline tandis que le second permet de déterminer si le plasmide est recombinant ou non en donnant une coloration bleue aux colonies n'ayant pas intégré l'insert et donc synthétisant l'enzyme qui clivera X-gal. Les colonies d'intérêt seront donc de



Figure 27 : Exemple de séquence sous forme de chromatogramme

coloration blanche. Les souches recombinantes seront alors sélectionnées, les colonies purifiées, la bibliothèque de clones recombinants criblée et l'ADN d'intérêt extrait des plasmides à l'aide d'un kit permettant la lyse alcaline des cellules et la dénaturation des ADN chromosomique et plasmidique. Après neutralisation du pH, le premier précipite tandis que le second se renature et sera fixé par une matrice de silice avant d'être élué par de l'eau désionisée et conservé à -20°C dans du glycérol. Après purification des colonies, il faut vérifier, par électrophorèse, que des produits aspécifiques ne se soient pas insérés dans le gène, produisant ainsi des colonies blanches.

### 5.3.2. Méthode

Après amplification en PCR (amorces 16S359F (GGG GAA TTT TCC GCA ATG GG) et 23S30R (CTT CGC CTC TGT GTG CCT AGG T), les produits PCR ont été purifiés à l'aide du kit 'QIAquick® PCR Purification' (Qiagen, USA) dont le principe se base sur une chromatographie d'exclusion de taille (pour éliminer les dimères d'amorces, les nucléotides et les impuretés). Pour la réalisation de cette étape, la colonne a été placée dans un eppendorf de 1,5 ml. Les produits PCR ont ensuite été successivement purifiés trois fois. Les produits PCR purifiés ont été récupérés après 2 minutes de centrifugation à 700 g. La pureté des produits PCR a ensuite été vérifiée par électrophorèse.

Selon les instructions du kit TOPO TA Cloning (Invitrogen, USA), les produits PCR purifiés ont été insérés dans le vecteur pCR2.1-TOPO, lui-même inséré dans des cellules *E. Coli* compétentes TOP10. Une fois les colonies d'intérêt détectées grâce à leur coloration, nous avons procédé à leur purification. Pour ce faire, chaque boîte de Pétri (LB + agar + ampicilline + X-gal) a été divisée en 6 portions. Ensuite, à l'aide d'un öse, une colonie blanche de la boîte mère a été transférée et étalée sur une portion des nouvelles boîtes. L'incubation a été réalisée durant toute une nuit à 37°C. Une PCR de contrôle (16S359F (GGG GAA TTT TCC GCA ATG GG) et 16S784R (GGA CTA CWG GGG TAT CTA ATC CC)) a ensuite été réalisée sur les colonies blanches sélectionnées. Les colonies positives ont été remises en culture en milieu LB liquide + ampicilline à 37°C durant une nuit sous agitation. 365 µl de glycérol 40% sont ajoutés à 635 µl de culture. Ces clones sont ensuite conservés à -20°C. Le reste de la culture liquide sert à l'extraction des plasmides, pour le séquençage. Cette extraction a été réalisée grâce au kit Quantum-Prep Plasmid Miniprep (Bio-Rad, USA) et selon les instructions du manuel.

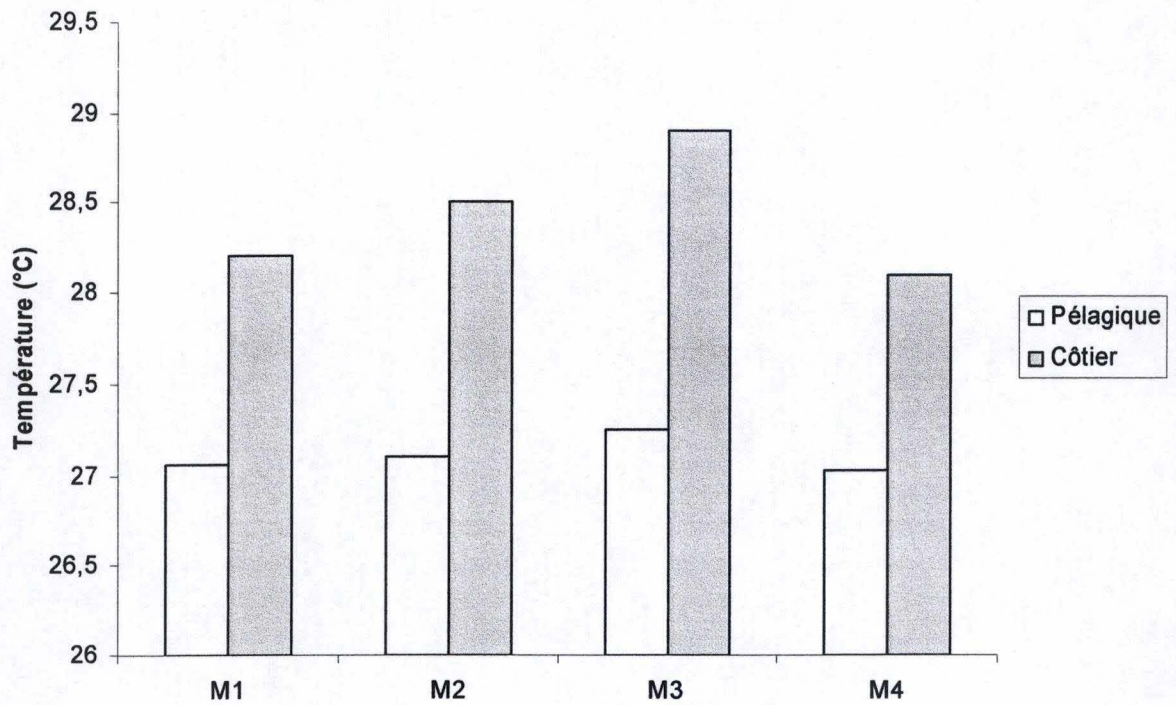
### 5.4. Séquençage

La méthode de séquençage utilisée est celle de Sanger. 40 µl de plasmides extraits ont été envoyés chez GenomExpress (Grenoble) et séquencés commercialement par cette firme, en utilisant l'amorce 16S1092R (GCG CTC GTT GCG GGA CTT).

### 5.5. Analyse des séquences

Les séquences sont reçues sous forme de chromatogrammes (Fig. 27) et inspectées manuellement. Après correction de celles-ci, l'alignement des séquences peut ensuite être effectué grâce au logiciel BioEdit. Les séquences seront ensuite analysées par BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Ce logiciel permet de retrouver les séquences les plus similaires présentes dans la banque de données GenBank. Un arbre des distances est ensuite construit par la méthode de Neighbor-joining avec le programme TREECON (Van De Peer & De Wachter, 1994).

# Résultats et discussion



**Figure 29 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier de la température lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

# 1. Analyses physico-chimiques

## 1.1. Température

Lors de notre période d'échantillonnage allant du 24 février 2007 au 09 mars 2007, la moyenne des températures sur toute la colonne d'eau en milieu pélagique (jusqu'à 100 mètres de profondeur) était d'environ 25,99°C.

La température moyenne des eaux de surface était, quant à elle, de 27,1°C ce qui est en accord avec la gamme de températures fournie par Coulter (1991).

Nous pouvons observer une diminution de température avec la profondeur suite à une diminution de la pénétration des rayons solaires réchauffant les eaux (Fig. 28). Cette différence de température entre les différentes masses d'eau permet la stratification de la colonne d'eau du lac. En effet, trois couches principales peuvent être mises en évidence sur la figure 28 : l'épilimnion de 0 à environ 20 mètres possédant des températures plus ou moins constantes, le métalimnion de 20 à environ 55 mètres incluant la thermocline aux alentours de 20 à 30 mètres et enfin l'hypolimnion à partir de 55 mètres.

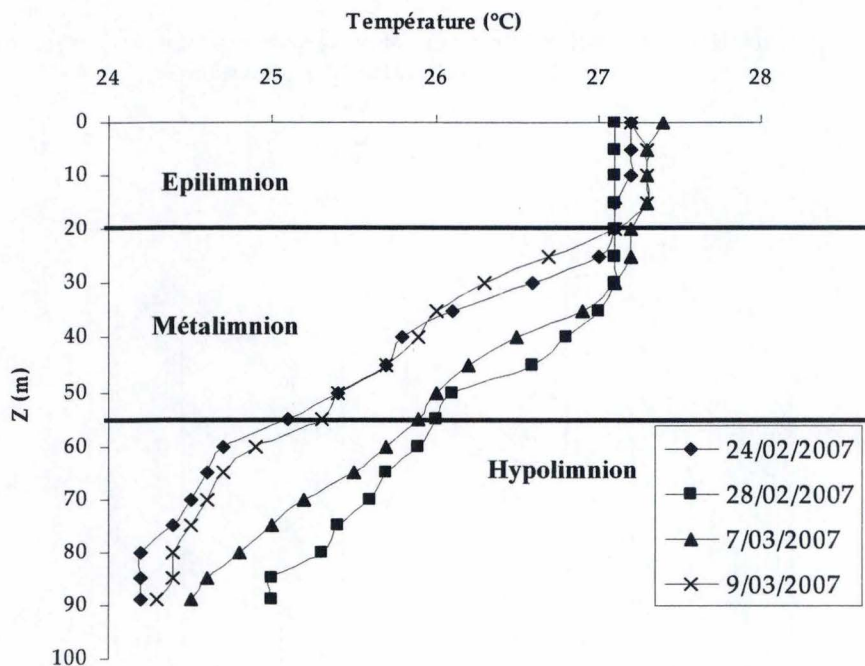


Figure 28 : Température en fonction de la profondeur lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Si l'on compare les températures en milieu pélagique et en milieu côtier (Fig. 29), celle-ci est généralement plus élevée en milieu côtier (moyenne de 28,43°C) qu'en milieu pélagique (moyenne de 27,11°C). En effet, en milieu côtier, la profondeur maximale de la colonne d'eau est de 8 mètres. Cette dernière étant peu profonde, la masse d'eau se réchauffera plus qu'en milieu pélagique.



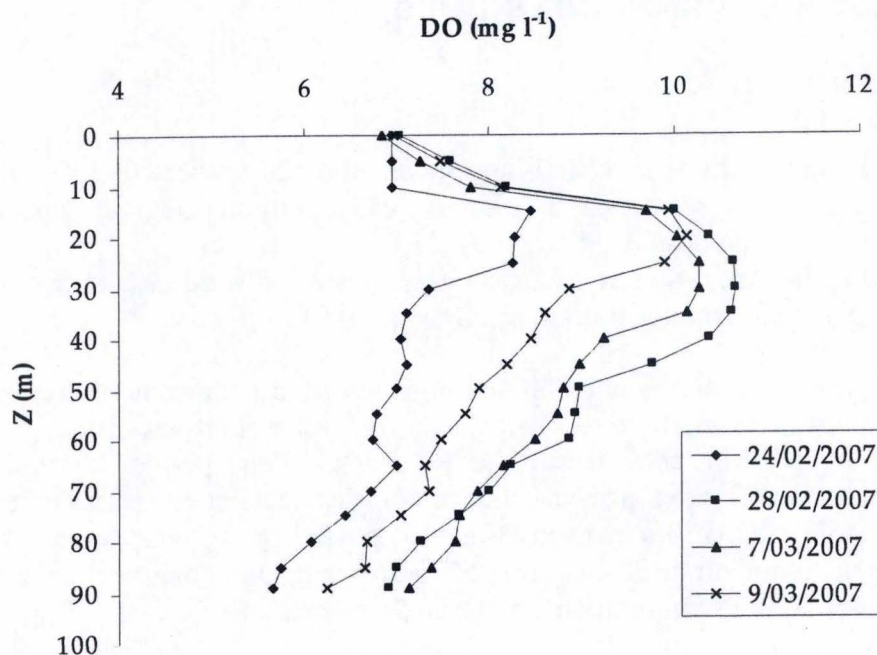


Figure 30 : Concentrations en oxygène dissous en fonction de la profondeur lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

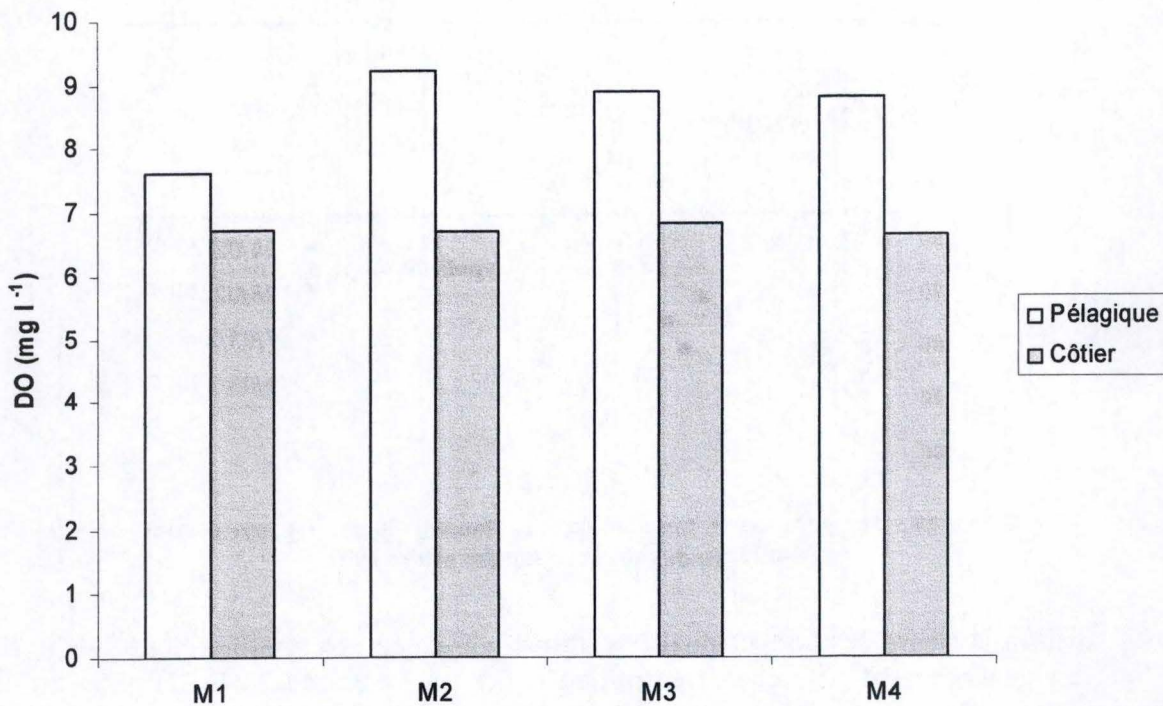


Figure 31 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier de la concentration en oxygène dissous lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

## 1.2. Oxygène dissous

La tendance générale des concentrations en oxygène dissous le long de la colonne d'eau est une diminution de celle-ci avec la profondeur (Fig. 30). Nous observons que la concentration maximale n'est toutefois pas retrouvée en surface mais plutôt aux alentours de 20 mètres de profondeur. Ce pic peut être lié aux activités biologiques comme la photosynthèse. En effet, une tendance du phytoplancton à se concentrer aux alentours de 20 mètres de profondeur peut être observée : cette distribution verticale est possible du fait de l'augmentation de densité au niveau de la thermocline, en l'absence d'une turbulence verticale importante. Elle permet notamment à une partie des algues d'éviter le phénomène de photo-inhibition de leur photosynthèse. De ce fait, il y aura une activité photosynthétique plus grande à cet endroit, ce qui nous permettrait d'expliquer une augmentation des concentrations en oxygène dissous aux mêmes profondeurs.

En milieu pélagique, la moyenne des concentrations en oxygène dissous est de 8,61 mg l<sup>-1</sup> tandis qu'elle s'élève à 6,72 mg l<sup>-1</sup> en milieu côtier (Fig. 31).

Comme nous le savons déjà, en milieu pélagique le phytoplancton se concentre généralement à une profondeur de 20 mètres là où il y a augmentation de densité au niveau de la thermocline ce qui permet aux algues d'éviter la photo-inhibition due à de grandes intensités lumineuses. En milieu côtier, la couche d'eau atteint une profondeur maximale de 8 mètres seulement. Dans ce cas, la zone photique correspond donc à l'entièreté de la colonne d'eau. Le phytoplancton présent en milieu côtier pourrait donc être plus soumis à la photo-inhibition qu'en milieu pélagique. Ceci permettrait d'expliquer la diminution de concentration en oxygène dissous en milieu côtier par cette inhibition de photosynthèse.

## 1.3. pH et conductivité

Les mesures réalisées à Mpulungu au cours de la période d'échantillonnage (février-mars 2007) montrent un pH moyen alcalin de 8,89. Le pH moyen reste plus ou moins constant sur toute la colonne d'eau. Nous observons cependant une diminution avec la profondeur de celui-ci. Cette diminution serait liée à l'augmentation de la teneur en dioxyde de carbone en profondeur, elle-même liée à l'activité des bactéries hétérotrophes (Fig. 32). Pour la date du 24 février 2007, la valeur obtenue pour 40 mètres était trop grande probablement suite à une erreur de mesure, c'est pourquoi nous l'avons négligée.

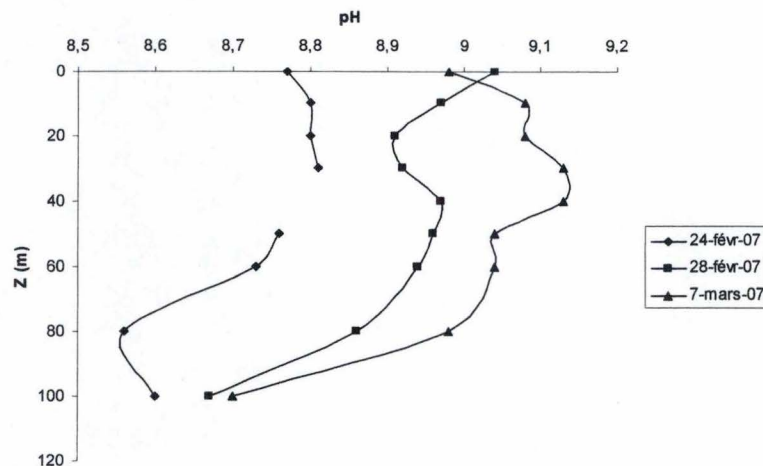
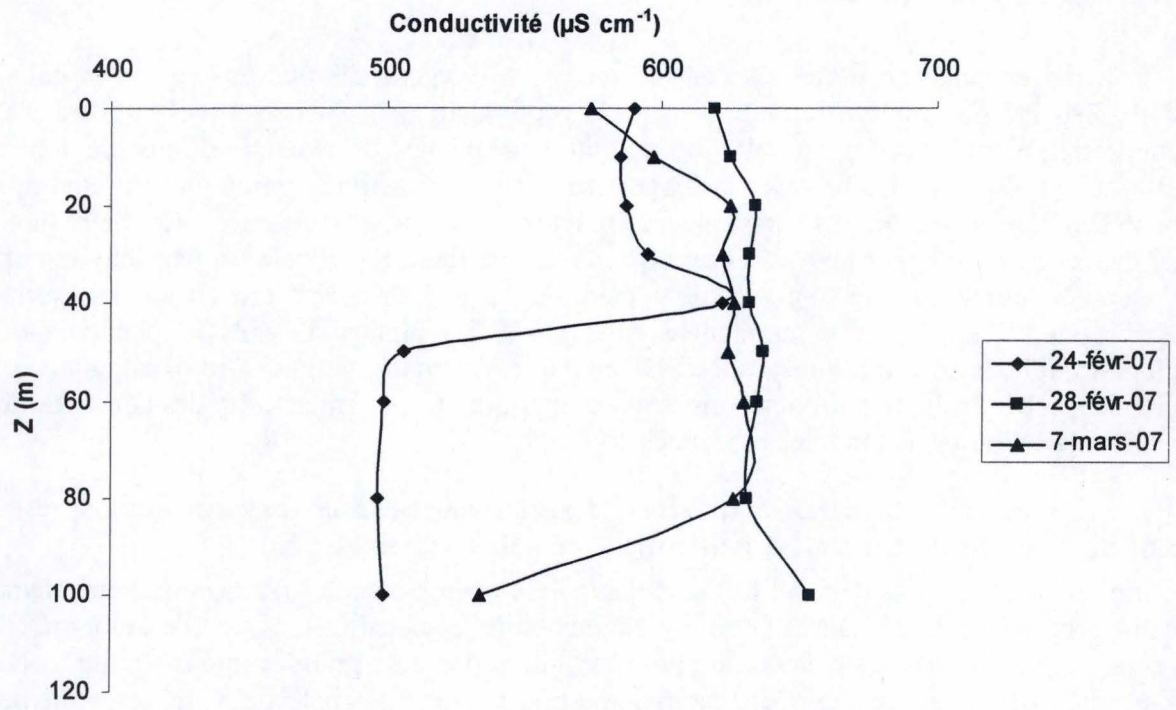


Figure 32 : pH en fonction de la profondeur lors des trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007



**Figure 34 : Conductivité en fonction de la profondeur lors des trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

Si l'on compare le milieu pélagique et le milieu côtier, nous observons un pH moyen de 8,94 en milieu pélagique et de 9,07 en milieu côtier (Fig. 33).

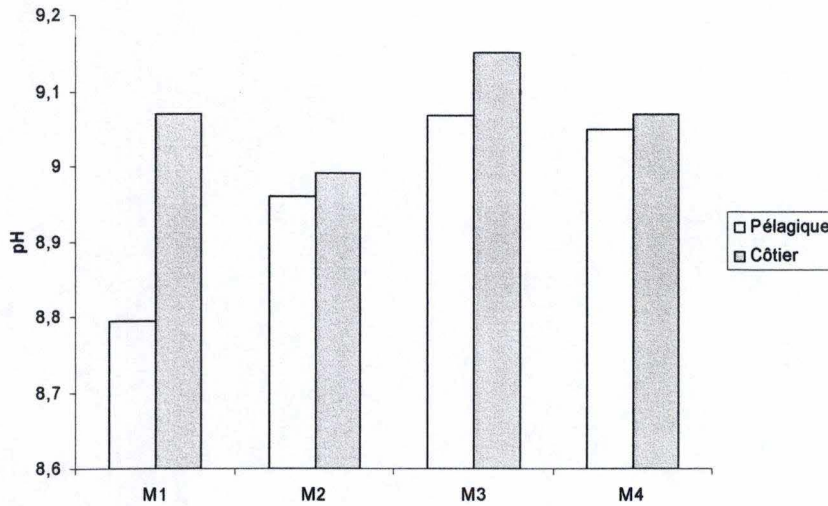


Figure 33 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier du pH lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

En ce qui concerne la conductivité, nous observons également des valeurs plus ou moins constantes sur toute la colonne d'eau. En général, les valeurs varient de 660  $\mu\text{S cm}^{-1}$  en surface à 690  $\mu\text{S cm}^{-1}$  en profondeur (Plisnier *et al.*, 1996). La valeur moyenne obtenue ici est plus faible, de l'ordre de 598  $\mu\text{S cm}^{-1}$  (Fig. 34). Cette différence pourrait être due aux fortes précipitations tout au long de notre période d'échantillonnage.

La comparaison pélagique (0 à 30 mètres) – côtier de la conductivité moyenne montre une plus haute conductivité en milieu côtier qu'en milieu pélagique (Fig. 35). Les plus fortes valeurs de conductivité en milieu côtier pourraient être dues aux fortes précipitations au cours de la période d'échantillonnage. En effet, les eaux ruisselant sur le sol remettent des ions en suspension dans les eaux du lac ce qui modifie la conductivité.

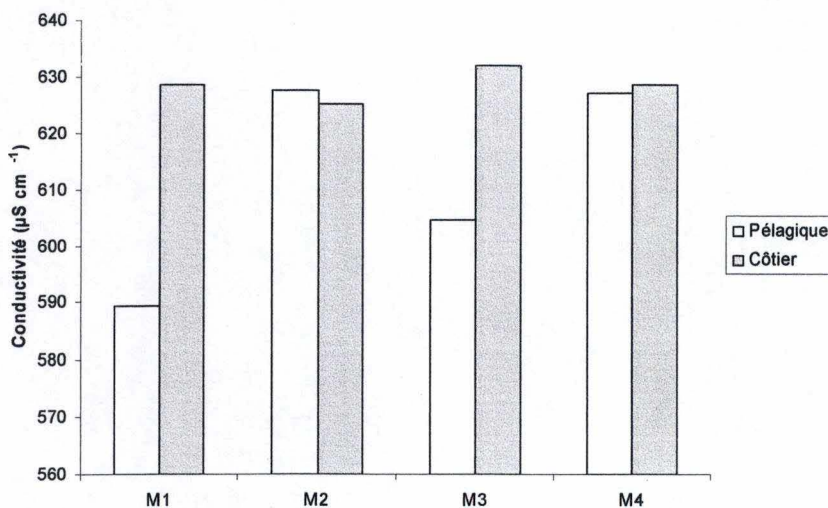


Figure 35 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier de la conductivité lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

## 1.4. Transparence de l'eau et zone photique

Comme nous le savons déjà, la croissance algale est largement dépendante du climat lumineux au sein de la colonne d'eau. Nous pouvons donc définir la zone photique. Cette dernière est généralement définie comme étant la zone dans laquelle la production primaire nette est théoriquement possible. Comme nous l'avons déjà dit auparavant, la limite inférieure de la zone photique est la profondeur à laquelle l'intensité lumineuse est égale à 1 % de celle existant en surface ( $I_0$ ).

L'estimation de la profondeur de la zone photique a été réalisée en milieu pélagique grâce au disque Secchi et au quantamètre Li-Cor LI 1400. En milieu côtier, elle a été réalisée uniquement grâce au quantamètre Li-Cor LI 1400 puisque la profondeur maximale était de 8 mètres (cf. matériel et méthodes).

En milieu pélagique, nous obtenons des valeurs moyennes de 36,3 mètres avec la méthode du disque Secchi et de 42 mètres avec celle utilisant le quantamètre.

En milieu côtier, l'estimation de la profondeur de la zone photique grâce au quantamètre donne une valeur moyenne de 27,8 mètres.

La différence existant entre les deux méthodes en milieu pélagique peut être expliquée par la présence de chlorophytes aux alentours de 10 mètres de profondeur. En effet, cette présence d'algues diminue la visibilité et affecte donc la mesure de la profondeur Secchi ce qui pourrait expliquer les valeurs plus faibles obtenues pour la profondeur de la zone photique à partir de cette méthode.

Lors des mélanges profonds, la profondeur de la zone de mélange peut excéder celle de la zone photique. Dans ce cas, le phytoplancton peut être entraîné hors de la zone photique. Ce phénomène provoque une diminution de croissance ; reflet d'une production nette négative due à l'intensité lumineuse moyenne moindre au sein de la colonne d'eau à ces plus basses profondeurs. La limitation par la lumière sera possible lorsque le rapport entre la profondeur de mélange et la profondeur de la zone photique ( $Z_m : Z_{eu}$ ) sera supérieur à une profondeur critique qui dépend de l'éclairement en surface, de l'efficacité photosynthétique du phytoplancton et de son activité respiratoire.

En milieu pélagique, le rapport moyen  $Z_m : Z_{eu}$  était de 0,575 et relativement constant au cours de notre période d'échantillonnage. Dans ces conditions, le phytoplancton reste constamment dans la zone photique, ce qui lui permet sans doute de réaliser une photosynthèse nette suffisante. La lumière n'était sans doute pas limitante pour la croissance.

Vu la relativement faible profondeur de la colonne d'eau, la moyenne du rapport  $Z_m : Z_{eu}$  s'élevait à 0,294 en milieu côtier. La plus faible profondeur devrait permettre au phytoplancton de réaliser une photosynthèse nette plus élevée qu'en milieu pélagique, étant donné que la lumière reste proche des conditions de lumière saturante.

## 1.5. Intensité lumineuse

Au cours de notre période d'échantillonnage, nous avons enregistré les valeurs d'intensité lumineuse pour chaque journée de prélèvement.

Nous pouvons donc appliquer la formule de Riley (1975) qui va nous permettre d'estimer la lumière moyenne reçue par les algues au sein de la zone de mélange.

Ces intensités lumineuses se situent dans la gamme de 183 à 369  $\mu E m^{-2} s^{-1}$  pour le milieu pélagique et de 253 à 649  $\mu E m^{-2} s^{-1}$  pour le milieu côtier. Ces gammes de valeurs nous montrent bien que l'intensité lumineuse est plus grande en milieu côtier.

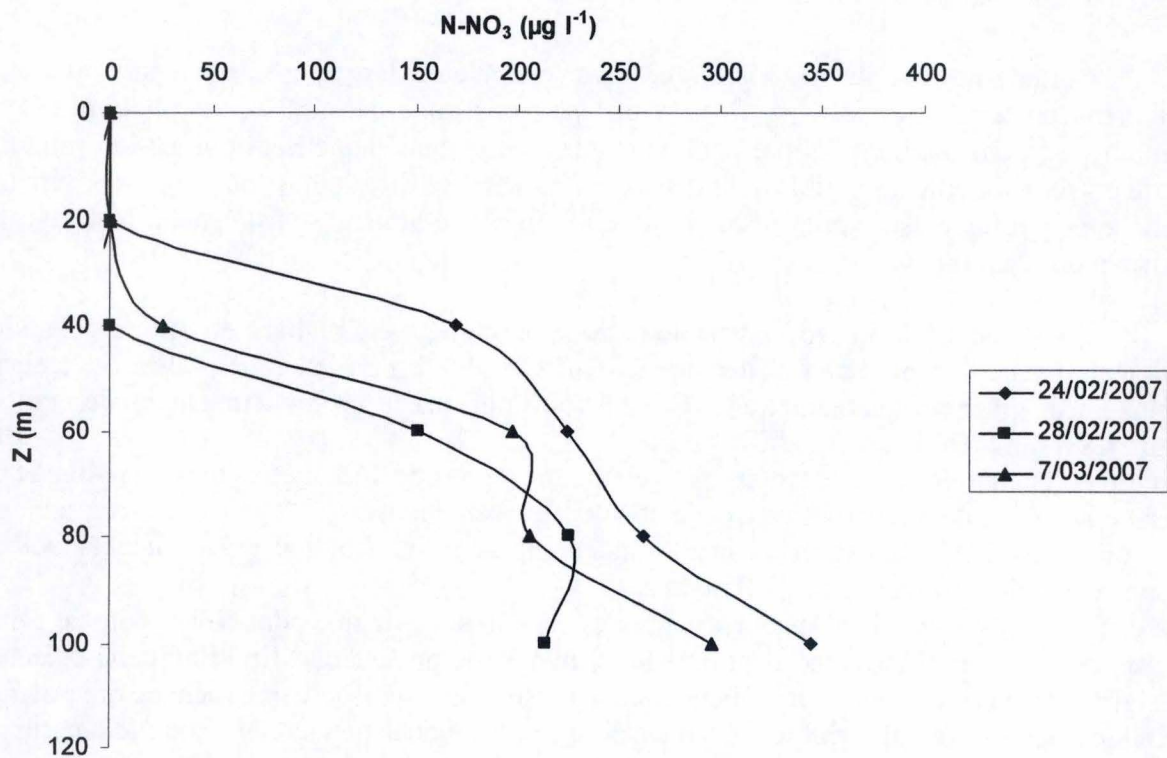


Figure 36 : Concentrations en nitrates (en  $\mu\text{g N-NO}_3 \text{ l}^{-1}$ ) en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

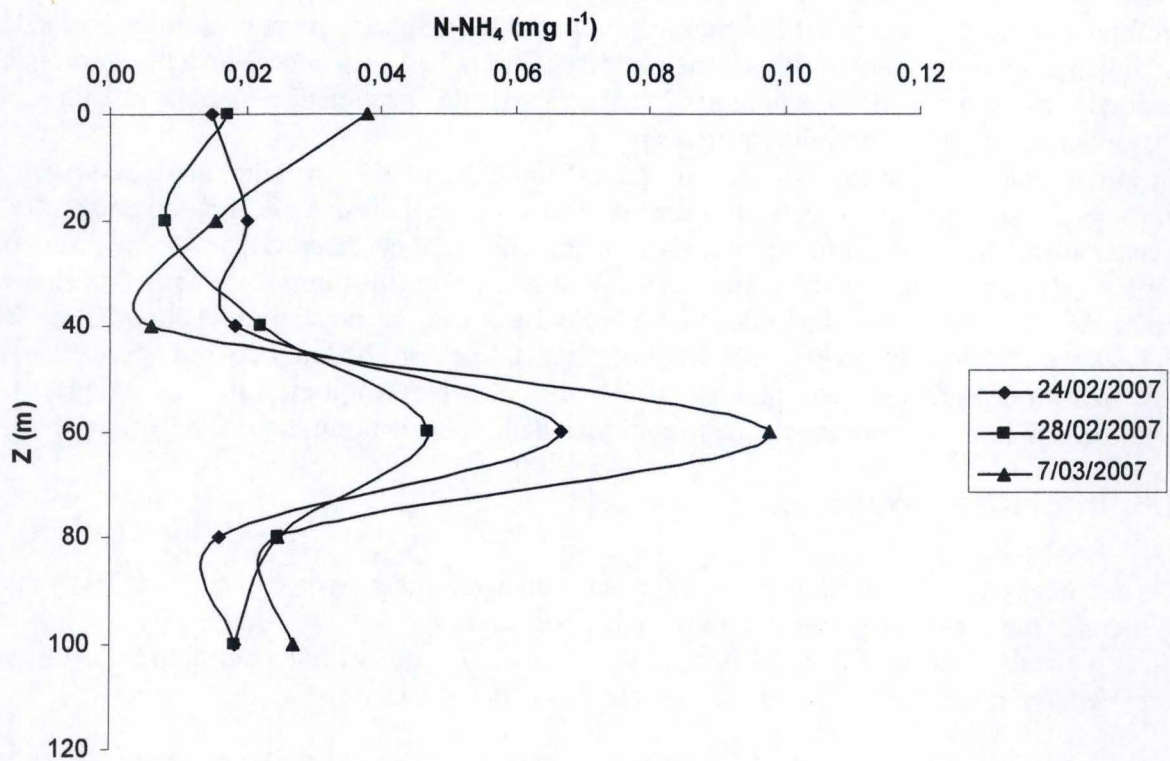


Figure 37 : Concentrations en ammonium (en  $\text{mg N-NH}_4 \text{ l}^{-1}$ ) en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

## 1.6. Nutriments

### 1.6.1. Azote

De manière générale, en milieu pélagique, la tendance des nitrates est une augmentation de concentration avec la profondeur (Fig. 36). Les concentrations en nitrites en milieu pélagique étaient à la limite du seuil de détection. En milieu côtier, les concentrations en nitrates et en nitrites étaient à la limite du seuil de détection.

Pour le profil des concentrations en ammonium dissous, nous observons une diminution des concentrations dans les 40 premiers mètres (Fig. 37). Cette diminution serait due à l'assimilation de l'ammonium par le phytoplancton présent dans la zone photique. Nous observons ensuite une augmentation des concentrations moyennes en ammonium jusqu'à 60 mètres, juste après la thermocline. Selon Coulter (1991), cette dernière serait due à une régénération des particules sédimentant à partir de l'épilimnion. Les concentrations diminuent à nouveau dans l'hypolimnion.

Sur la figure 38, nous pouvons voir que les concentrations en ammonium sont généralement supérieures en milieu côtier. En effet, en zone littorale, de par le contact avec les sédiments, les nutriments sont bien présents. De plus, la proximité avec le milieu terrestre permet, lors de la saison des pluies, d'obtenir une remise en suspension des nutriments à partir des eaux de pluies ruisselant sur les terres.

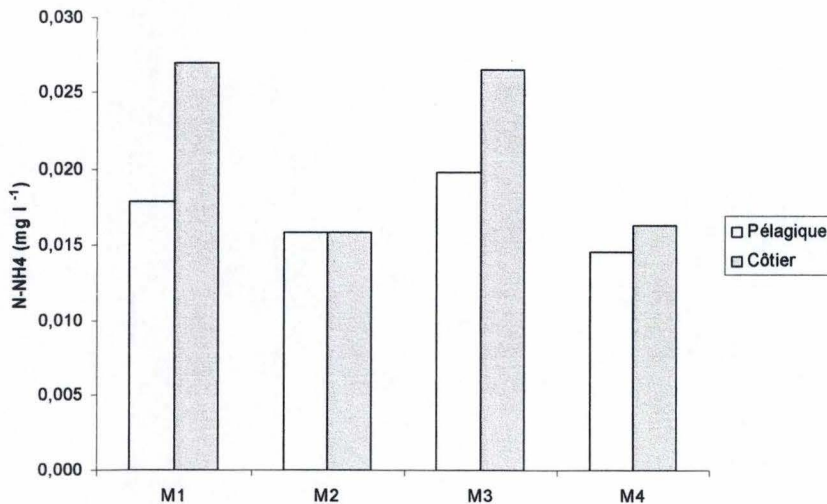
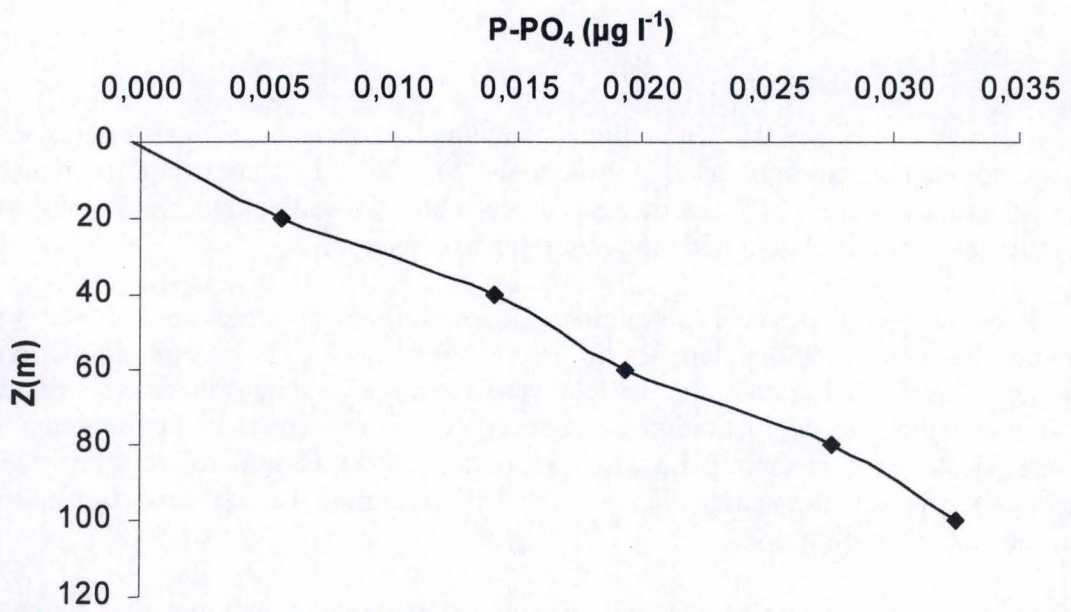


Figure 38 : Comparaison pélagique (0 – 40 mètres) – côtier des concentrations en ammonium (en mg N-NH<sub>4</sub> l<sup>-1</sup>) lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

### 1.6.2. Orthophosphates

En théorie, pour les orthophosphates, le schéma général est une augmentation des concentrations en fonction de la profondeur.

Les dosages réalisés pour la saison des pluies 2007 n'étaient certainement pas corrects. En effet, les profils pour les saisons des pluies 2006 et 2007 à Mpulungu ont été réalisés simultanément et présentent la même anomalie : nous observons une diminution des



**Figure 40 : Concentrations en orthophosphates (en µg P-PO<sub>4</sub> l<sup>-1</sup>) en fonction de la profondeur à Mpulungu durant la saison des pluies 2005**



concentrations en orthophosphates en profondeur au lieu d'une augmentation de celles-ci avec la profondeur (Fig. 39).

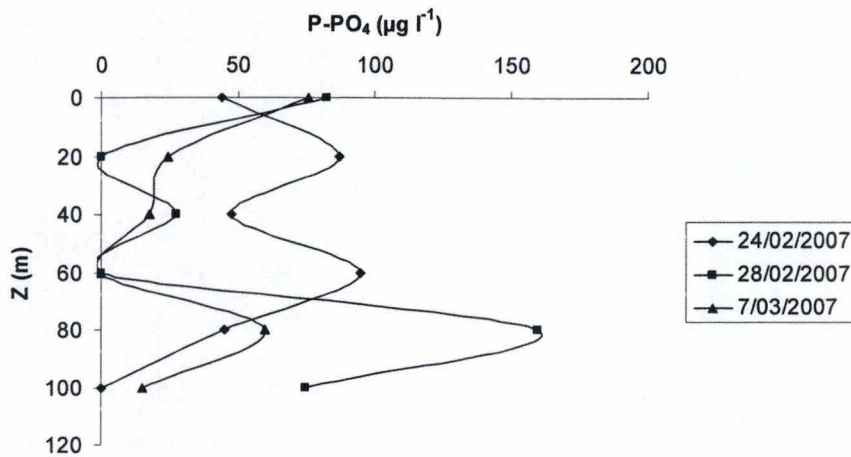


Figure 39 : Concentrations en orthophosphates (en  $\mu\text{g P-PO}_4 \text{l}^{-1}$ ) en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Si nous observons les profils réalisés pour la saison des pluies 2005 à Mpulungu, nous remarquons bien cette augmentation typique des concentrations avec la profondeur (Fig. 40). Cette dernière s'explique par la dégradation des organismes morts sédimentant par les bactéries hétérotrophes.

En milieu côtier, nous pouvons voir des concentrations en orthophosphates généralement plus faibles qu'en milieu pélagique (Fig. 41). Toutefois, les valeurs que nous avons obtenues pour la saison des pluies 2007 sont anormalement élevées.

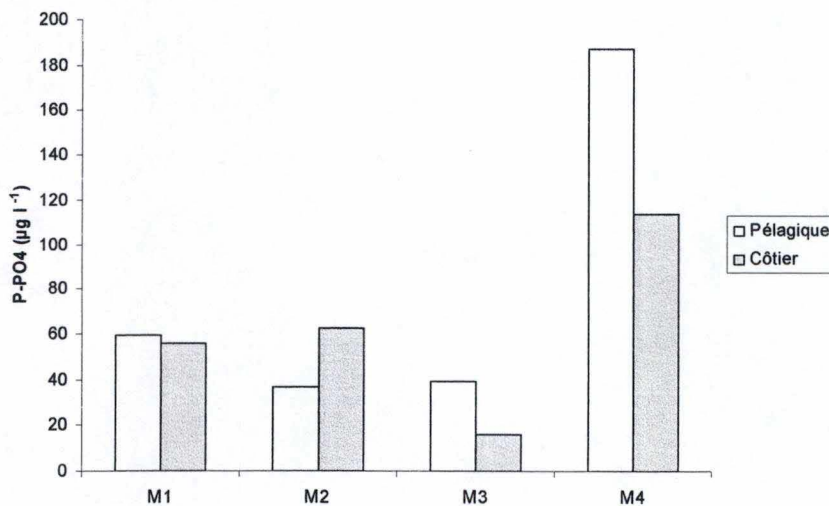


Figure 41 : Comparaison pélagique (0 – 40 mètres) – côtier des concentrations en orthophosphates (en  $\mu\text{g P-PO}_4 \text{l}^{-1}$ ) lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

### 1.6.3. Silice

En ce qui concerne la silice, les concentrations sont plus ou moins uniformes dans les 40 premiers mètres. Nous observons une légère diminution, aux alentours de 20 mètres. Aux alentours de 60 mètres, les concentrations chutent jusqu'à 80 mètres puis augmentent à nouveau avec la profondeur probablement suite à la dissolution des diatomées mortes sédimentant dans l'hypolimnion (Fig. 42).

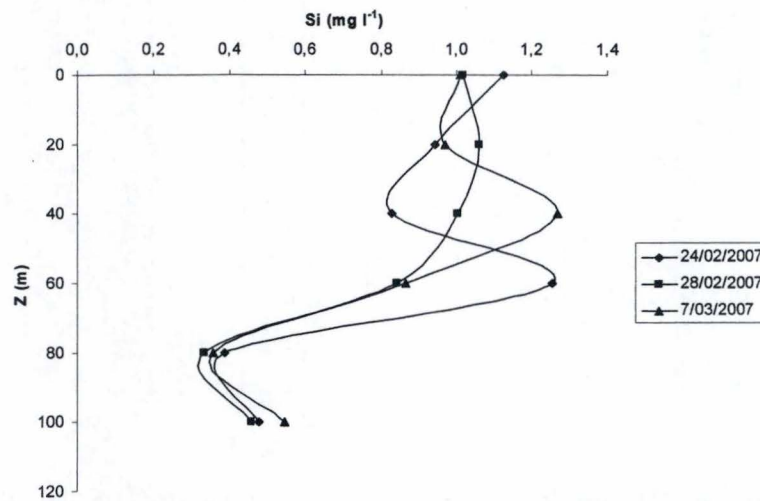


Figure 42 : Concentrations en silice (en mg Si l<sup>-1</sup>) en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Généralement, les profils typiques obtenus pour la silice montrent une augmentation des concentrations en silice avec la profondeur. En effet, les concentrations sont faibles dans l'épilimnion suite à l'assimilation de silice par les diatomées et augmentent avec la profondeur suite à la sédimentation et à la dégradation de celles-ci.

Si l'on compare les deux milieux étudiés, nous observons des concentrations en silice plus grandes en milieu côtier pour les deux premières sorties et plus faibles pour ce même milieu lors des deux dernières sorties (Fig. 43).

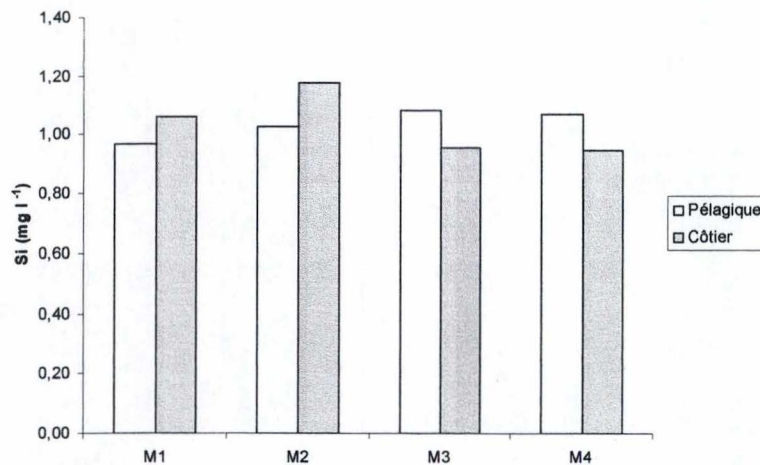
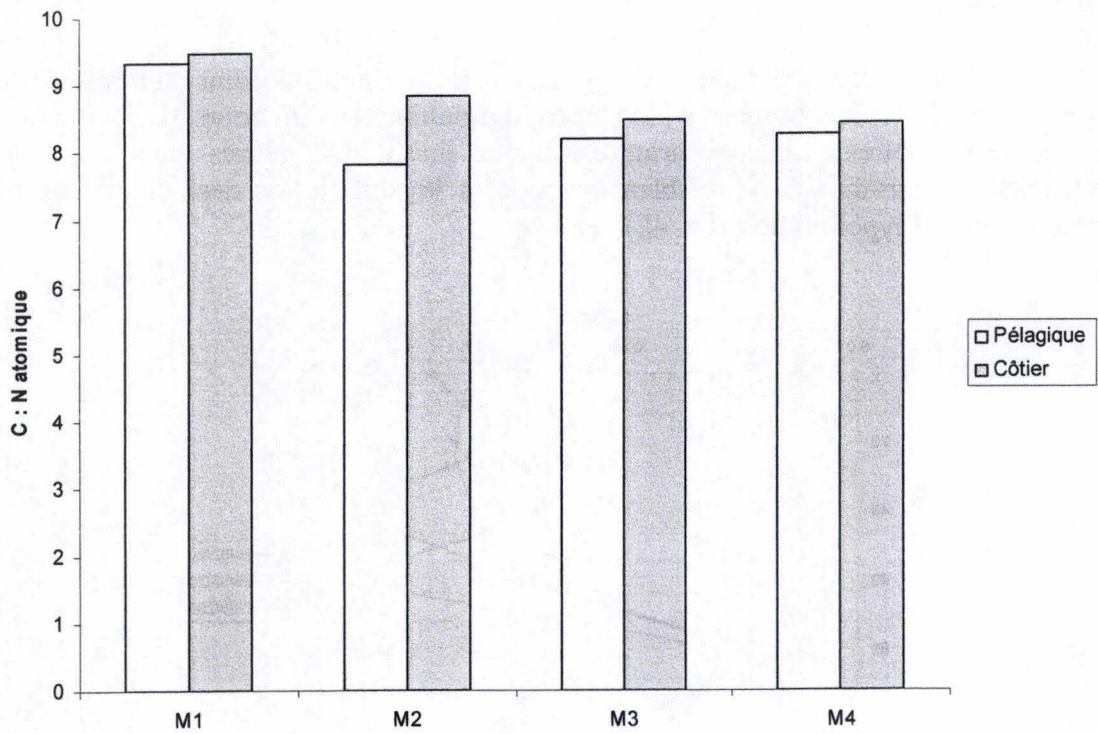
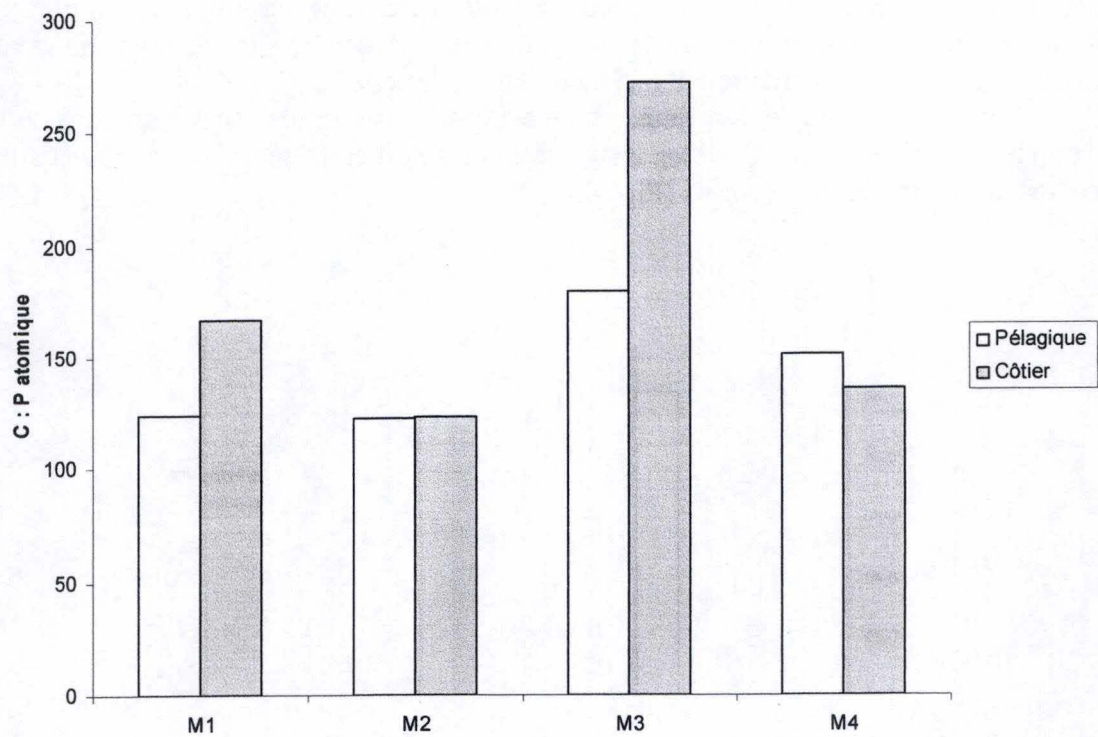


Figure 43 : Comparaison pélagique (0 - 40 mètres) - côtier des concentrations en silice (en mg Si l<sup>-1</sup>) lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007



**Figure 44 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des rapports C : N atomiques lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**



**Figure 45 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des rapports C : P atomiques lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

## 1.7. Composition élémentaire

Les dosages du carbone, de l'azote et du phosphore particulaire en milieu pélagique (0 – 30 mètres) montrent des valeurs du rapport C : N atomique comprises entre 7,82 et 9,35 ; pour le milieu côtier, ces valeurs sont comprises entre 8,43 et 9,49 (Fig. 44).

En ce qui concerne le rapport C : P atomique, en milieu pélagique (0 – 30 mètres), les valeurs sont comprises entre 121,9 et 179,7 tandis qu'en milieu côtier, elles sont comprises entre 123,1 et 272,2 (Fig. 45).

Nous savons aussi qu'un rapport C : N atomique inférieur à 8,3 n'indique aucune déficience en azote ; elle est considérée comme modérée de 8,3 à 14,6, et sévère au-delà. Une déficience significative en phosphore est atteinte lorsque le rapport C : P atomique est supérieur à 129, et elle est considérée comme forte à partir de 258 (Tableau 3 ; Guildford *et al.*, 2003).

Indicator	Nutrient	No Deficiency	Moderate Deficiency	Extreme Deficiency	Deficient
C:N <sup>a</sup>	N	< 8.3	8.3–14.6	> 14.6	
C:P <sup>a</sup>	P	< 129	129–258	> 258	
N:P <sup>a</sup>	P	< 22			> 22
C:Chl <sup>b</sup>	N or P	< 4.2	4.2–8.3	> 8.3	
N debt <sup>c</sup>	N	< 0.15			> 0.15
P debt <sup>d</sup>	P	< 0.075			> 0.075

<sup>a</sup> atomic ratio

<sup>b</sup>  $\mu\text{mol C}/\mu\text{g chl}$

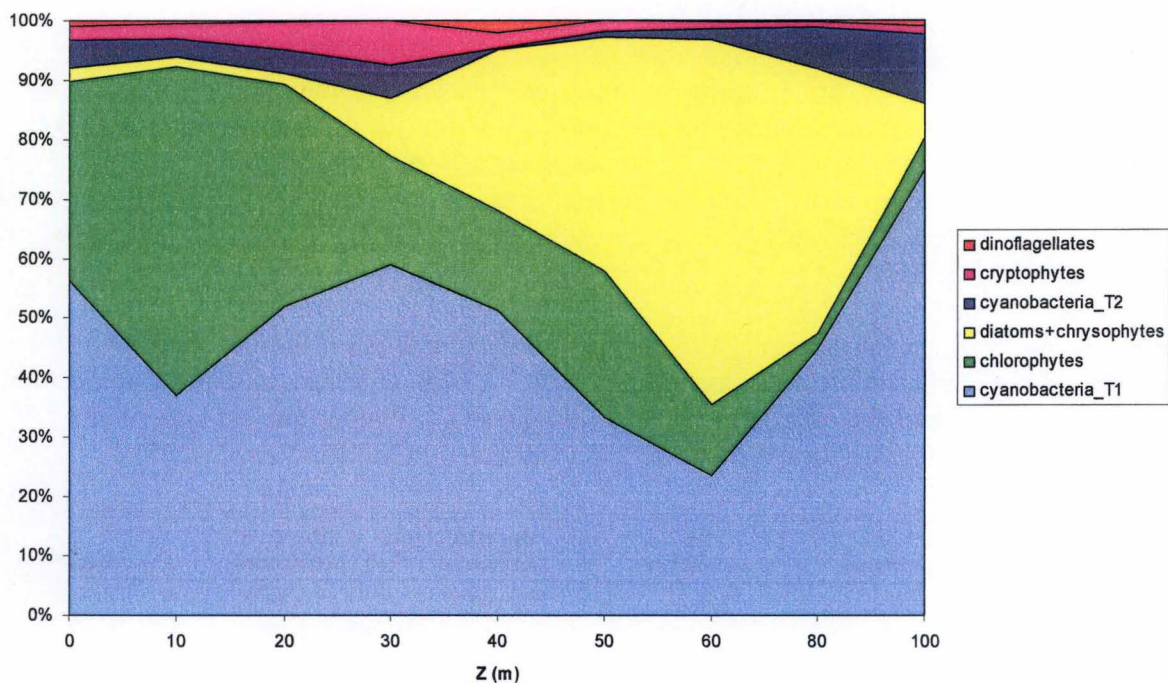
<sup>c</sup>  $\mu\text{mol N}/\mu\text{g chl}$

<sup>d</sup>  $\mu\text{mol P}/\mu\text{g chl}$

**Tableau 3 : Valeurs indicatrices de la présence ou de l'absence ou degré de déficience en nutriments (C = carbone particulaire ; N = azote particulaire ; P = phosphore particulaire ; chl = chlorophylle *a*) (Guildford *et al.*, 2003)**

Les valeurs moyennes du rapport C : N atomique sont de 8,41 et de 8,81, respectivement en milieu pélagique et milieu côtier. D'après les valeurs données par Guildford *et al.* (2003), nous pouvons dire que la déficience en azote est modérée et ce aussi bien en milieu pélagique que côtier.

Les valeurs moyennes obtenues pour le rapport C : P atomique sont de 144,2 en milieu pélagique et de 174,4 en milieu côtier. Toujours d'après les valeurs de Guildford *et al.* (2003), nous pouvons dire que les deux milieux présentent une déficience modérée en phosphore avec toutefois une déficience légèrement supérieure en milieu côtier.



**Figure 47 : Contribution en pourcents des différentes classes algales à la chlorophylle *a* totale en fonction de la profondeur à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

## 2. Le phytoplancton

### 2.1. Composition algale

L'analyse HPLC nous a permis de quantifier la chlorophylle *a* présente dans nos échantillons mais également d'autres pigments. La quantification de ces différents pigments permet la détermination de la composition algale au niveau de la classe dans la colonne d'eau du lac Tanganyika.

Si l'on observe la composition algale en fonction de la profondeur, nous remarquons que dans les 40 premiers mètres les populations dominantes sont celles des chlorophytes et des cyanobactéries T1. Nous retrouvons également des cyanobactéries T2, des cryptophytes et des dinoflagellés. En profondeur, nous retrouvons principalement des diatomées et des chrysophytes (Fig. 46).

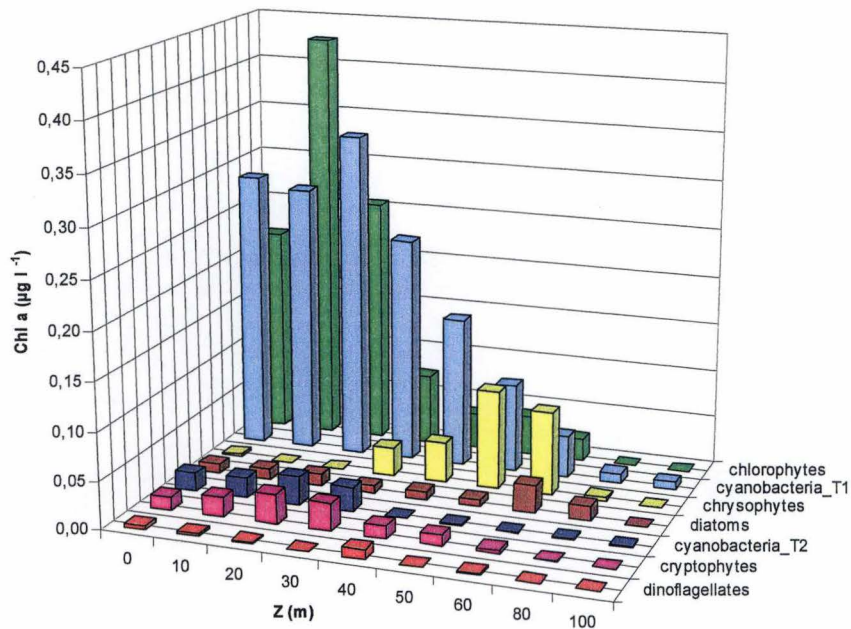
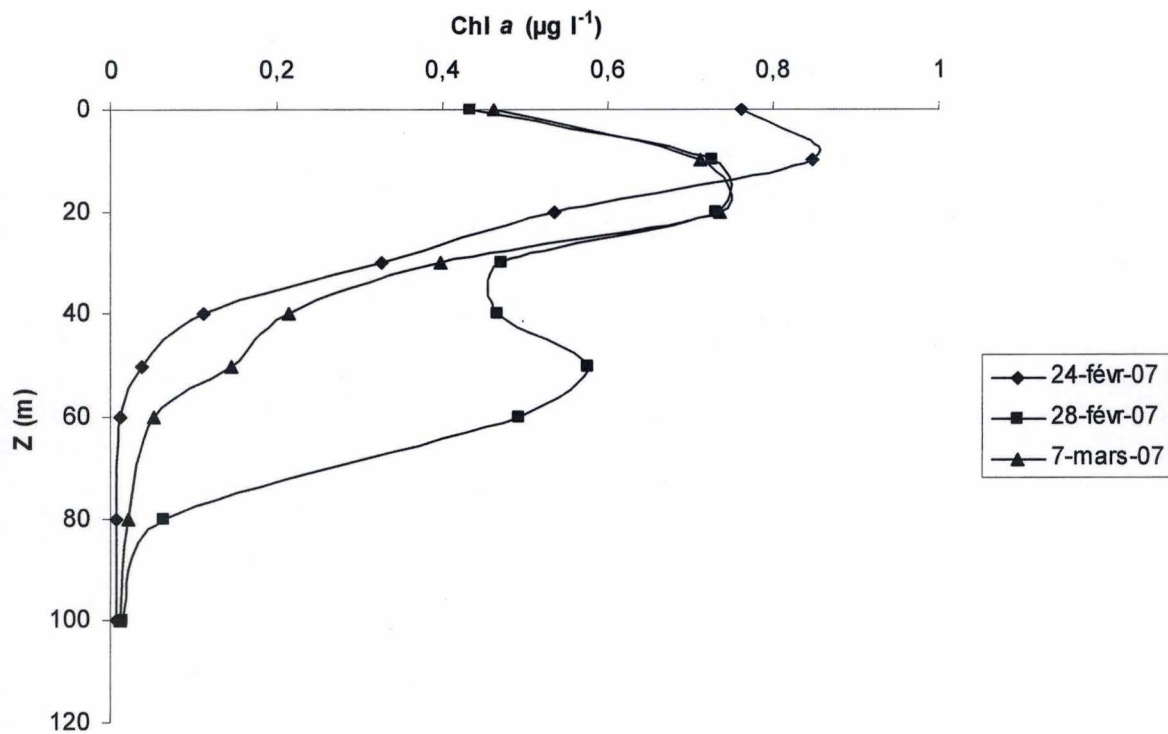


Figure 46 : Composition algale sur toute la colonne d'eau à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Dans les 40 premiers mètres, les cyanobactéries de type T1 contribuent en moyenne à 51,2 % de la chlorophylle *a* totale. Ensuite, les chlorophytes contribuent à 32,2 %. Les dinoflagellés, les cryptophytes, les cyanobactéries T2, les diatomées et les chrysophytes se partagent les 16,6 % restants (Fig. 47).

En effet, en saison des pluies, lorsque la quantité de lumière au sein de la colonne d'eau est importante, l'assemblage phytoplanctonique est généralement dominé par des espèces photophiles telles que les picocyanobactéries et les chlorophytes (Coulter, 1991).

Le succès des picocyanobactéries en milieu pélagique lors de la saison des pluies 2007 à Mpulungu serait dû à la disponibilité en lumière accrue liée à une transparence de l'eau plus grande et à une couche de mélange peu profonde ( $Z_m : Z_{eu} < 1$ ) caractéristique de cette saison au lac Tanganyika. Ceci, couplé à une faible disponibilité en substances nutritives, favoriserait les petites cellules algales avec un grand rapport surface : volume, capables d'une assimilation rapide des nutriments (Descy *et al.*, 2005).



**Figure 49 : Distribution verticale de la chlorophylle *a* sur toute la colonne d'eau en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

Si l'on effectue une comparaison pélagique (0 à 30 mètres) – côtier, nous observons une présence plus importante de cyanobactéries T1, de dinoflagellés et de diatomées en milieu côtier (Fig. 48).

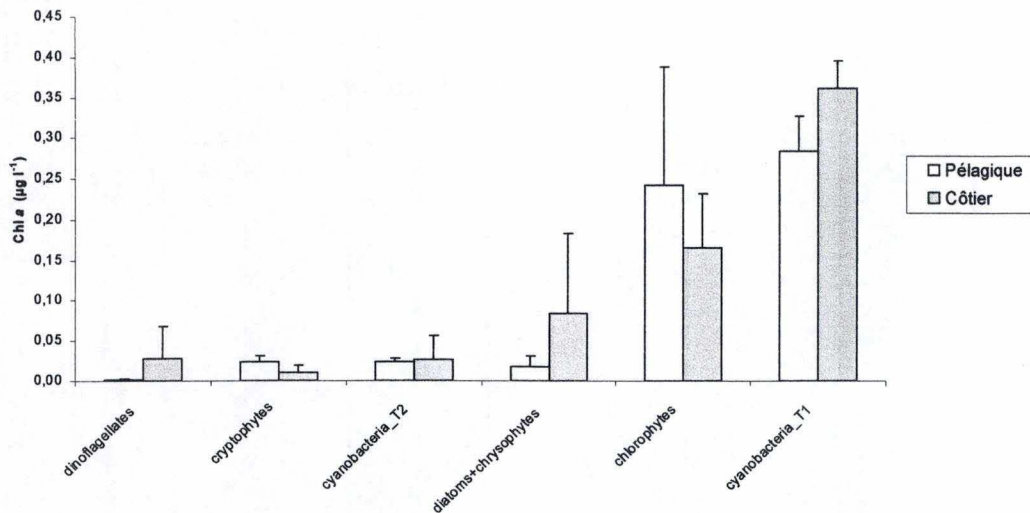


Figure 48 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier de la composition algale en µg Chl a l<sup>-1</sup> à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Comme nous l'avons dit auparavant, le succès des picocyanobactéries serait dû à une disponibilité en lumière accrue, à une zone de mélange faible et à des concentrations très faibles en nutriments. En milieu côtier, le climat lumineux est différent de celui de la zone pélagique (voir 1.5.), ce qui pourrait expliquer l'importance plus grande des cyanobactéries de type T1 en milieu côtier.

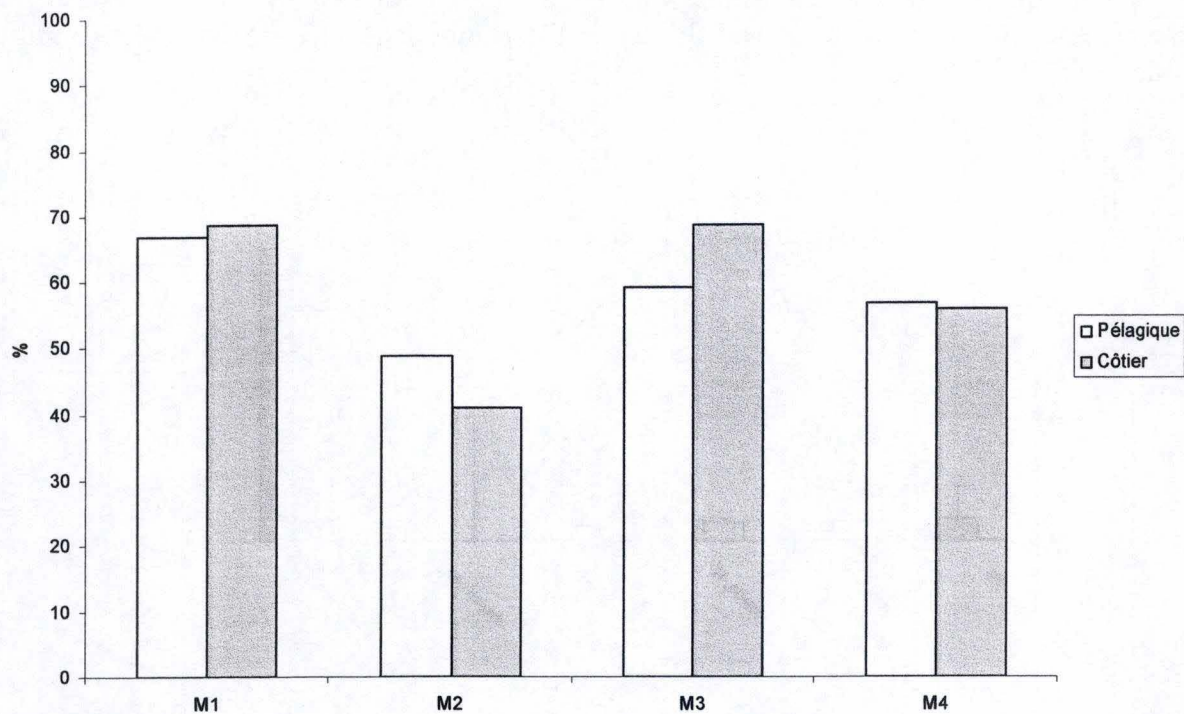
En ce qui concerne les nutriments, nous pourrions également émettre l'hypothèse qu'en saison des pluies les pluies abondantes permettraient une augmentation des nutriments dissous en milieu côtier. En effet, les eaux de pluies ruissellent sur les terres et entraînent avec elles des sédiments qui seront suspendus à nouveau dans les eaux du lac. Cette augmentation des nutriments dissous pourrait expliquer l'importance plus grande des cyanobactéries T1 dans ce milieu.

## 2.2. Biomasse totale

Les valeurs de chlorophylle *a* totale exprimées en µg chl *a* l<sup>-1</sup> ont été obtenues grâce à l'analyse HPLC.

Si l'on examine les concentrations en chlorophylle *a* en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties, nous observons que celles-ci ne sont pas homogènes sur toute la colonne d'eau (Fig. 49). En effet, les concentrations maximales sont généralement atteintes aux alentours de 10 à 20 mètres de profondeur. Nous observons ensuite une diminution avec la profondeur.





**Figure 51 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier de la contribution (en %) à la biomasse totale de la fraction de taille inférieure à  $2 \mu\text{m}$  lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

Le pic de chlorophylle *a* présent aux environs de 10 – 20 mètres de profondeur pourrait être mis en relation avec les concentrations en oxygène dissous présentes plus ou moins aux mêmes profondeurs. En effet, sur les profils d'oxygène dissous (Fig. 30), nous observons un pic, plus ou moins aux mêmes profondeurs, probablement lié à la photosynthèse effectuée par le phytoplancton.

La diminution avec la profondeur pourrait être due à la diminution de lumière dans les grandes profondeurs et donc à l'incapacité, pour le phytoplancton, d'effectuer la photosynthèse.

Si l'on compare les milieux pélagique (0 à 30 mètres) et côtier pour les quatre sorties, nous pouvons voir que les concentrations en chlorophylle *a* lors de la saison des pluies 2007 à Mpulungu n'étaient nettement supérieures en milieu côtier que lors de notre deuxième campagne de mesure. De ce fait, les valeurs moyennes étaient de 0,71  $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$  en milieu côtier et de 0,59  $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$  en milieu pélagique (Fig. 50).

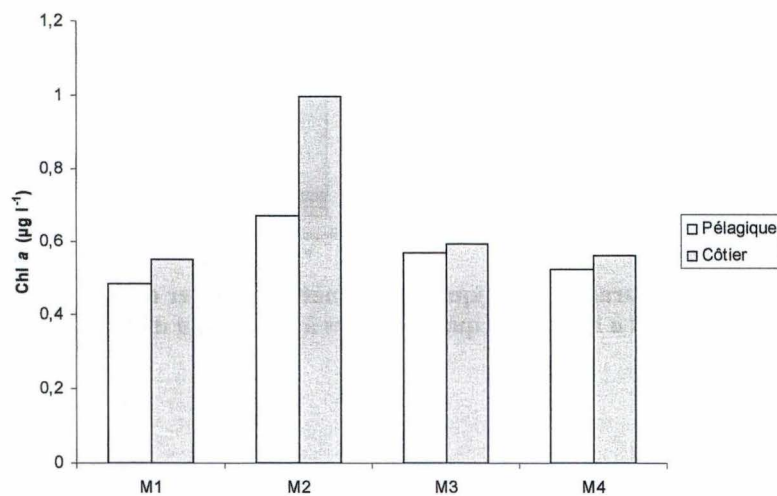


Figure 50 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des concentrations en chlorophylle *a* lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

A Mpulungu, durant les saisons des pluies 2002 et 2003, les concentrations en chlorophylle *a* pour la zone photique du milieu pélagique étaient respectivement de 0,71 et 0,73  $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$  (Descy *et al.*, 2005), alors que celles de la zone côtière étaient de 1,04  $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$  (2002) et de 0,49  $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$  (2003). Ceci suggère une variabilité plus importante de la biomasse phytoplanctonique en zone côtière.

### 2.3. Biomasse fractionnée et importance des picocyanobactéries

Lors des échantillonnages, nous avons également réalisé un fractionnement de la biomasse pour avoir un aperçu de la contribution de la biomasse picoplanctonique (soit  $< 2 \mu\text{m}$ ) à la biomasse phytoplanctonique totale en milieu pélagique et en milieu côtier.

Globalement, la fraction picoplanctonique constitue la majeure partie de la biomasse phytoplanctonique totale aussi bien en zone pélagique qu'en zone littorale (Fig. 51). Pour les échantillonnages M2 (28 février 2007) et M4 (09 mars 2007), la contribution de la fraction de taille supérieure à  $2 \mu\text{m}$  est plus élevée que pour les autres. En effet, si nous observons les

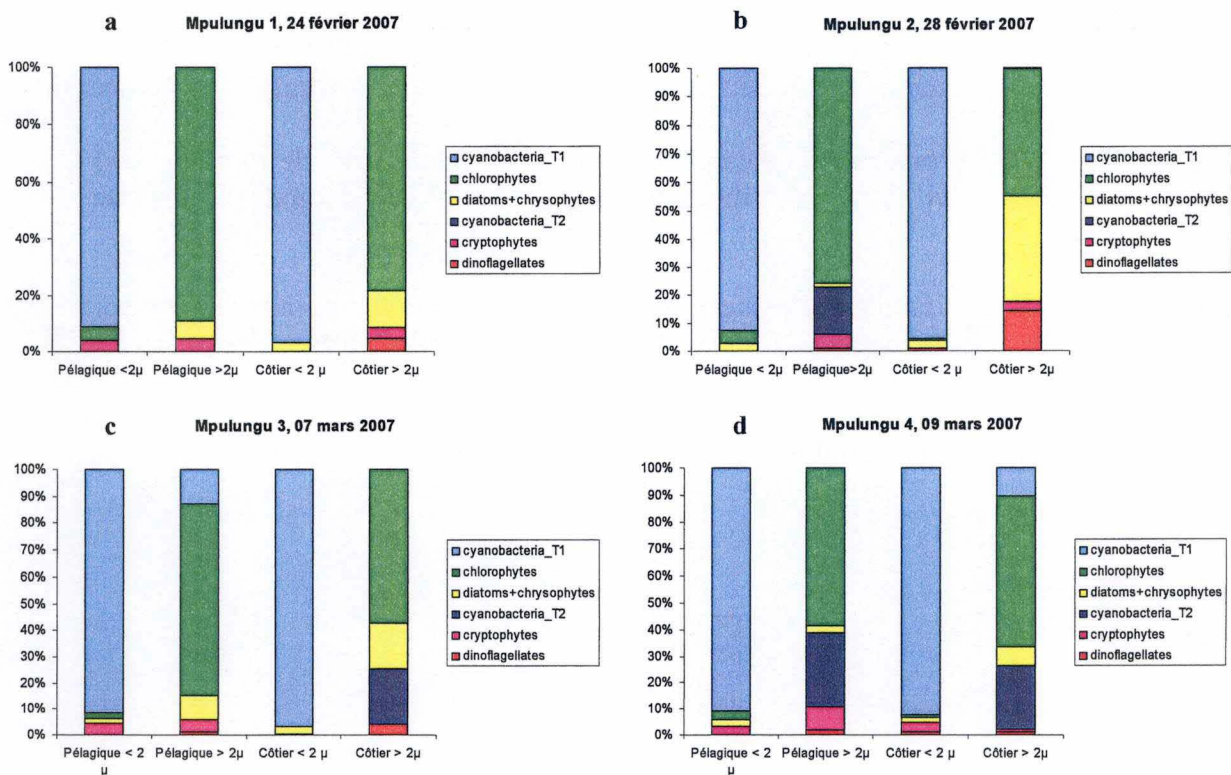


Figure 52 a, b, c et d : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier de la composition algale de la biomasse fractionnée en  $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$  lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

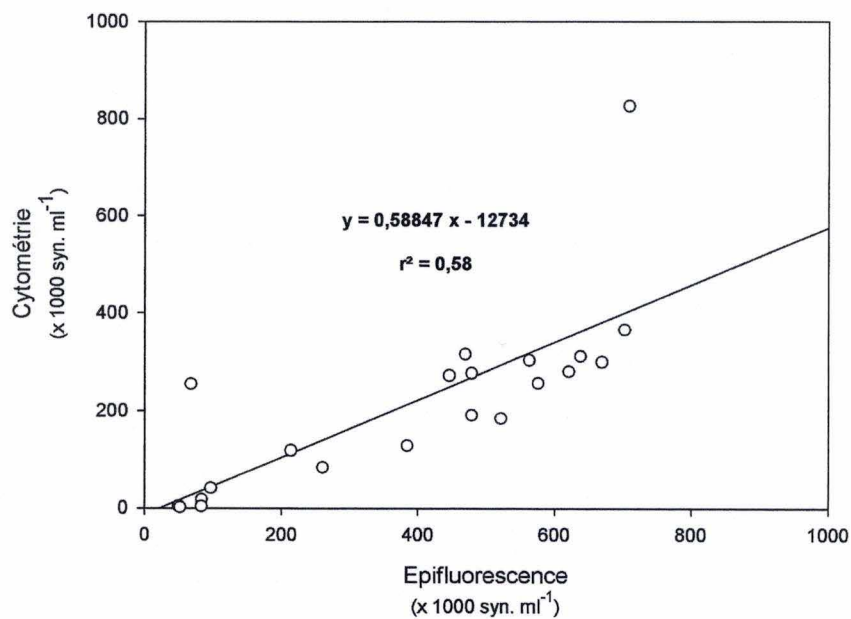


Figure 53 : Corrélation entre les abondances picoplanctoniques estimées par microscopie à épifluorescence et par cytométrie de flux à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

valeurs HPLC obtenues pour ces deux dates, nous pouvons remarquer une contribution plus importante de chlorophytes.

Si l'on considère la moyenne de la contribution picophytoplanctonique à la biomasse phytoplanctonique totale pour chacun des milieux, nous obtenons une valeur de 57,9 % en milieu pélagique (0 à 30 mètres) et une valeur de 58,5 % en milieu côtier.

Bell & Kalff (2001) proposent également qu'en eau douce le picophytoplancton contribue généralement à plus de 50 % de la biomasse totale dans des eaux (ultra)oligotrophes à une biomasse totale d'environ  $0,54 \mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$ . Ces valeurs sont en accord avec celles obtenues lors de cette étude.

Si l'on compare la composition des mélanges pélagique (0 à 30 mètres) et côtier fractionnés (fractions de taille inférieure et supérieure à  $2 \mu\text{m}$ ) pour les quatre sorties, nous remarquons que les cyanobactéries T1 occupent la majeure partie de la fraction de taille inférieure à  $2 \mu\text{m}$  (Fig. 52 a, b, c et d).

En effet, dans les deux milieux, les cyanobactéries T1 représentent entre 90 et 95 % de la fraction de cette taille. Les chlorophytes sont, quant à elles, essentiellement retrouvées dans la fraction de taille supérieure à  $2 \mu\text{m}$  et ce tout au long des quatre sorties. Nous pouvons également remarquer que les diatomées sont généralement plus importantes en milieu côtier qu'en milieu pélagique et ce dans les deux fractions de taille. En effet, dans cet environnement, les diatomées présentes pourraient provenir d'une remise en suspension de diatomées benthiques.

Comme nous l'avons déjà dit auparavant, le succès des cyanobactéries T1 de taille inférieure à  $2 \mu\text{m}$  en milieu côtier serait lié à l'exposition à une forte lumière suite à une grande transparence de l'eau ainsi qu'à une zone de mélange peu profonde (maximum 8 mètres de profondeur). Leur petite taille cellulaire leur permettrait également d'être de bons compétiteurs pour les nutriments.

En ce qui concerne les chlorophytes de taille inférieure à  $2 \mu\text{m}$ , nous pouvons remarquer que ce groupe est essentiellement représenté en milieu pélagique.

En milieu côtier, nous pouvons également remarquer la quasi absence des cryptophytes. En effet, ces algues se situent généralement, en milieu pélagique, à des profondeurs de 40 mètres et ne sont donc presque pas retrouvées en zone littorale.

## 2.4. Abondance, biovolume et biomasse des picocyanobactéries

L'estimation de l'abondance des picocyanobactéries a été réalisée grâce aux techniques de microscopie à épifluorescence et de cytométrie de flux.

Sur base de nos résultats obtenus en microscopie à épifluorescence et de ceux obtenus en cytométrie de flux, nous pouvons établir une corrélation entre ces deux méthodes ( $r^2 = 0,58$  ; Fig. 53).

D'après ce graphe, nous avons décidé de ne tenir compte, pour les abondances picoplanctoniques, que des résultats obtenus en cytométrie de flux.

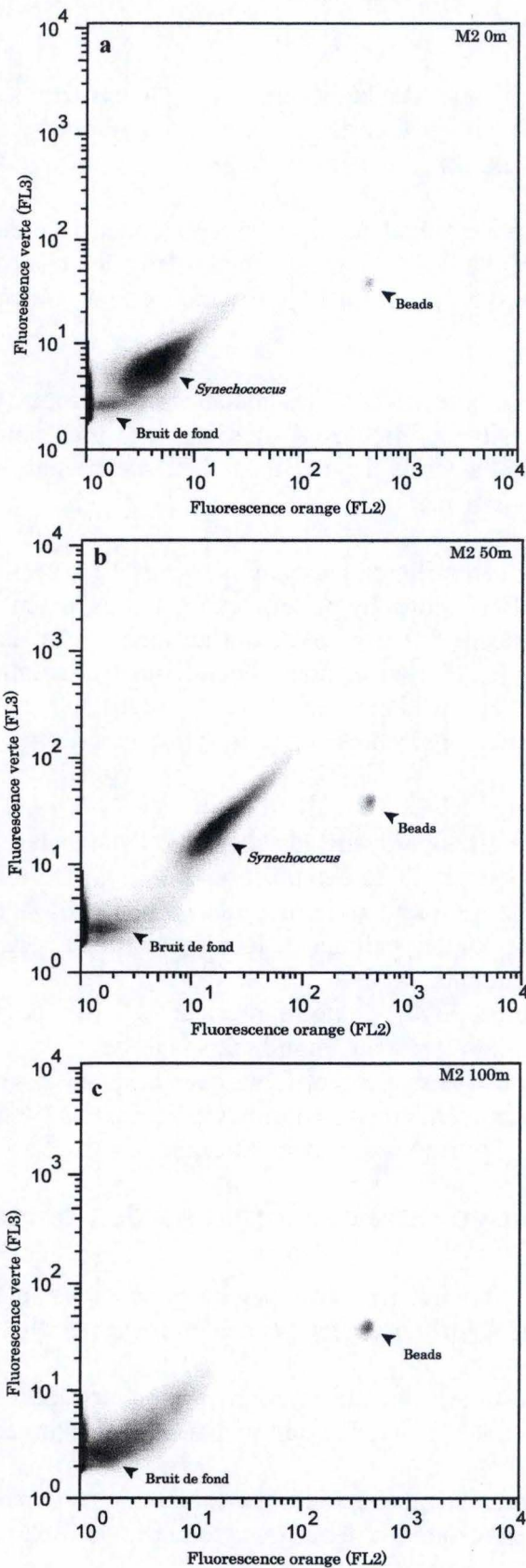


Figure 54 a, b et c : Exemple de cytogrammes obtenus pour le comptage des *Synechococcus* sp. à 0, 50 et 100 mètres de profondeur lors de la deuxième sortie à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Sur les cytogrammes obtenus, nous avons délimité les populations de *Synechococcus* sp.. Si l'on regarde ces cytogrammes, nous voyons clairement la diminution de l'abondance cellulaire en fonction de la profondeur (Fig. 54 a, b et c).

L'établissement de profils pour les trois premières sorties permet également de montrer une augmentation de l'abondance cellulaire des *Synechococcus* sp. aux alentours de 20 mètres de profondeur et une diminution au-delà de cette profondeur (Fig. 55).

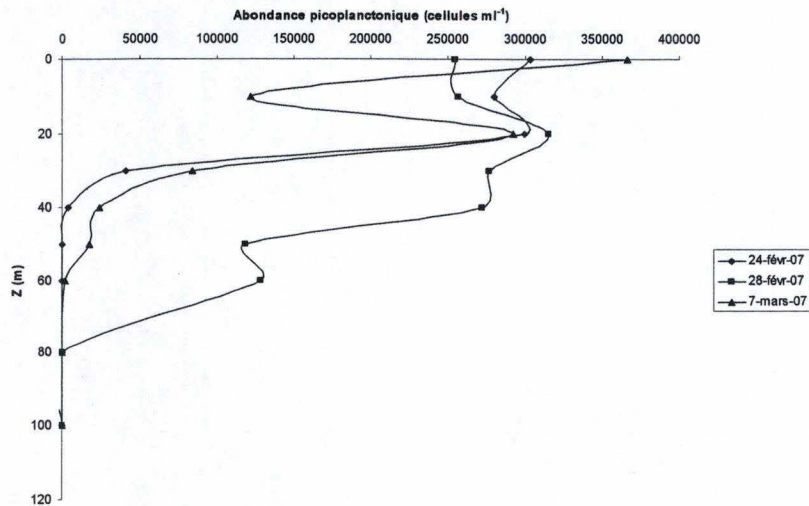


Figure 55 : Abondances picoplanctoniques estimées par cytométrie de flux en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Si l'on compare le milieu pélagique (0 à 30 mètres) et le milieu côtier pour les quatre sorties, l'abondance cellulaire est plus importante en milieu côtier (Fig. 56). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus en microscopie à épifluorescence bien que les valeurs soient beaucoup plus faibles.

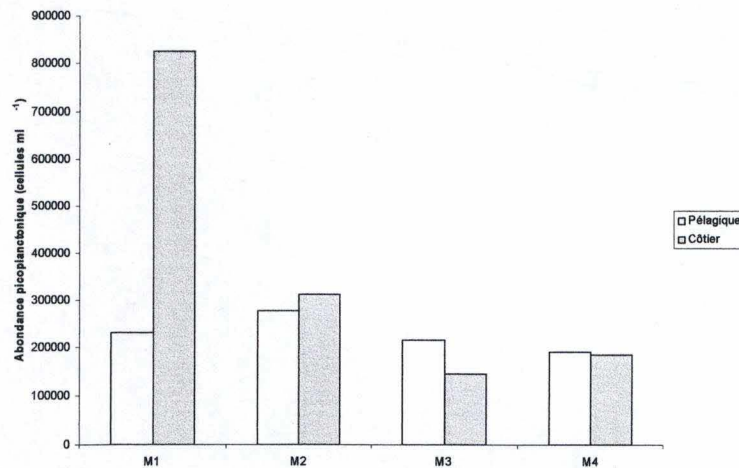


Figure 56 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des abondances picoplanctoniques estimées par cytométrie de flux lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

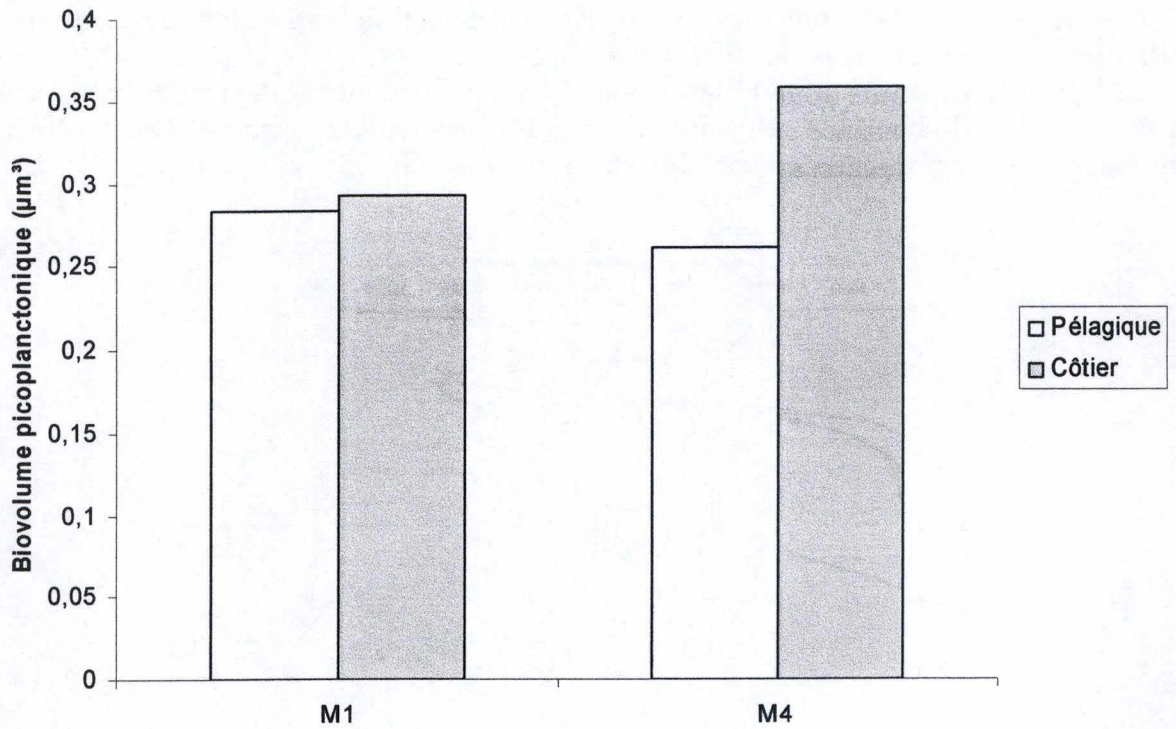


Figure 58 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des biovolumes picoplanctoniques estimés par microscopie à épifluorescence pour deux sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

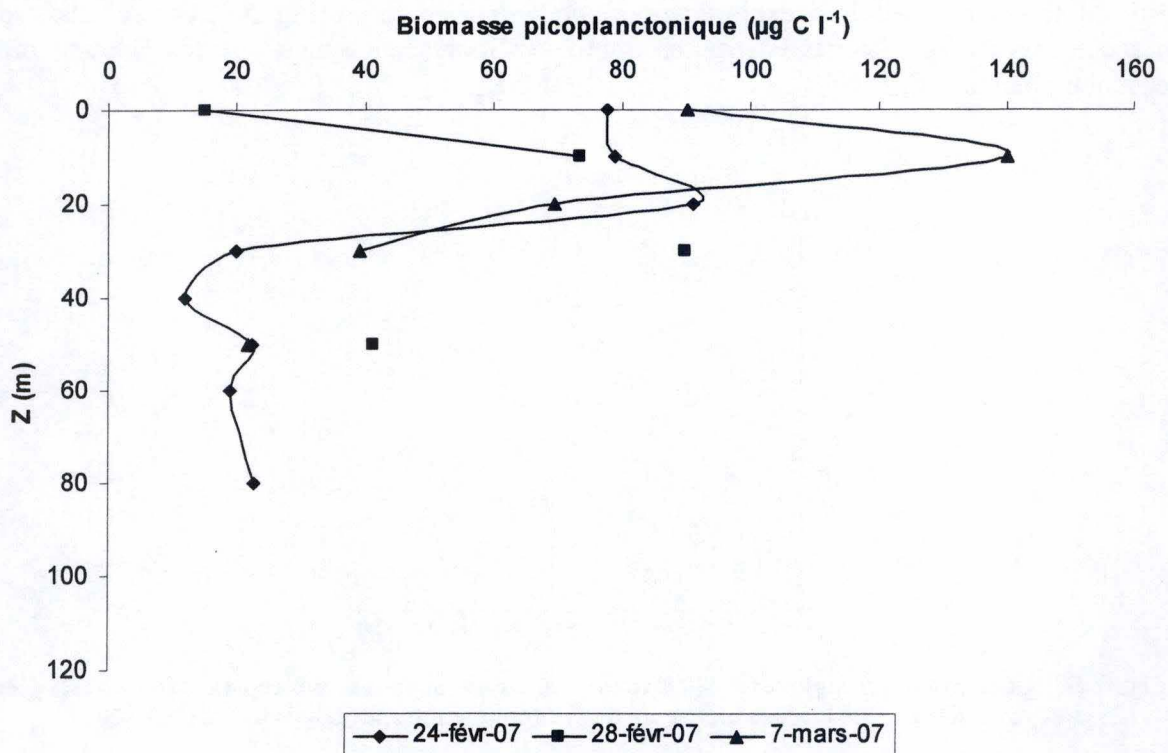


Figure 59 : Biomasses picoplanctoniques estimées par microscopie à épifluorescence en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Les estimations du biovolume et de la biomasse ont quant à elles été réalisées uniquement en microscopie à épifluorescence.

En ce qui concerne le biovolume en milieu pélagique, nous pouvons remarquer une diminution aux alentours de 10 – 20 mètres de profondeur puis une augmentation avec la profondeur (Fig. 57).

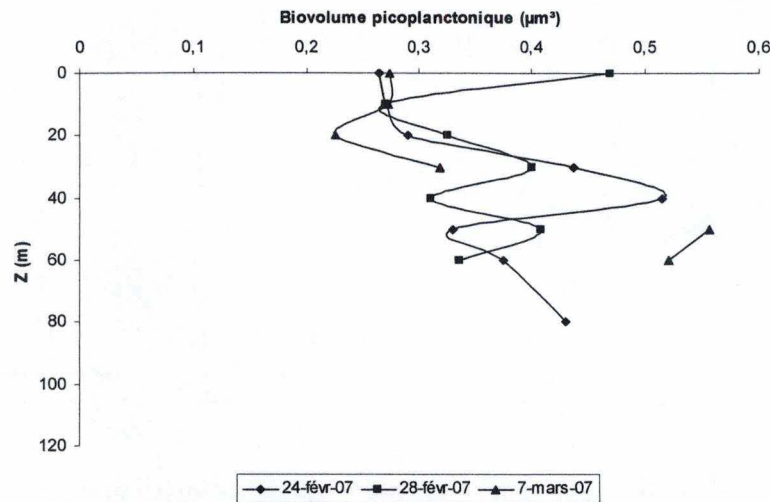


Figure 57 : Biovolumes picoplanctoniques estimés par microscopie à épifluorescence en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

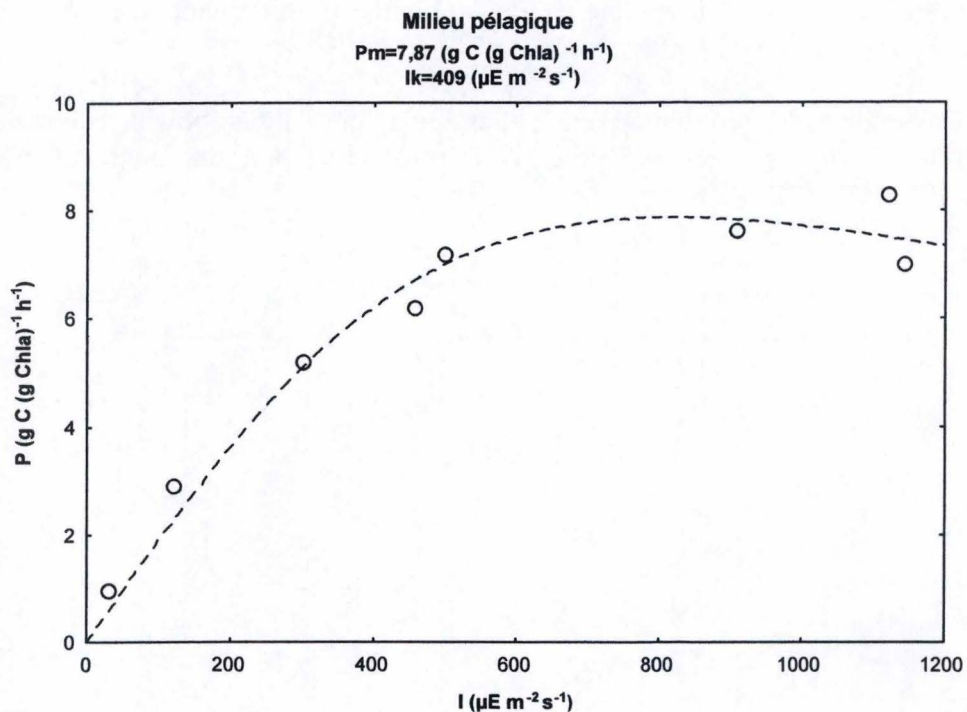
Si l'on observe les résultats d'une étude faite en parallèle (mémoire de Mélanie Lecomte), nous pouvons émettre l'hypothèse que la taille cellulaire serait réduite à ces profondeurs suite à la présence plus importante de brouteurs dans cette zone, qui correspond à la zone de mélange.

Cette diminution de biovolume dans la zone photique pourrait également être expliquée par les concentrations en nutriments dans cette zone. En effet, les algues augmentent leur rapport surface : volume lorsque les concentrations en nutriments sont faibles pour permettre une meilleure assimilation de ceux-ci. La plus petite taille cellulaire rencontrée à 10 et 20 mètres de profondeur pourrait donc être expliquée par les faibles concentrations en nutriments présentes dans l'épilimnion. Le phytoplancton ayant besoin de ces nutriments réduirait sa taille cellulaire pour augmenter son rapport surface : volume et permettrait donc une meilleure assimilation des nutriments.

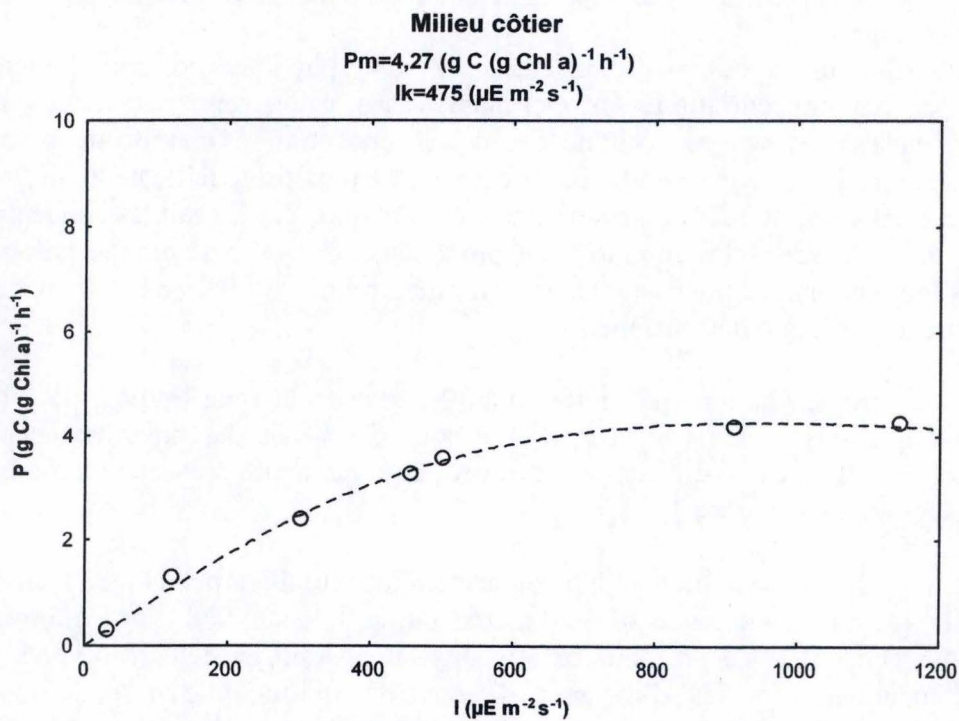
Si l'on compare la zone pélagique (0 à 30 mètres) à la zone littorale pour les sorties M1 (24 février 2007) et M4 (09 mars 2007), nous observons un biovolume supérieur en milieu côtier (Fig. 58). Cette différence serait peut être due à une présence moins importante de protozoaires en zone côtière.

En ce qui concerne la biomasse picoplanctonique en milieu pélagique, nous observons à nouveau un pic aux environs de 10 – 20 mètres de profondeur suivi d'une diminution avec la profondeur (Fig. 59). Ce pic pourrait être mis en relation avec les différents pics déjà rencontrés auparavant (profils d'oxygène dissous, de chlorophylle *a* totale moyenne et d'abondance picoplanctonique en microscopie à épifluorescence).





**Figure 61 : Exemple de courbe photosynthèse – lumière typique du milieu pélagique au lac Tanganyika (Mpulungu) durant la saison des pluies 2007**



**Figure 62 : Exemple de courbe photosynthèse – lumière typique du milieu côtier au lac Tanganyika (Mpulungu) durant la saison des pluies 2007**

Si l'on compare les deux milieux étudiés, nous observons une plus grande biomasse en milieu côtier qu'en milieu pélagique (Fig. 60). La biomasse suit l'abondance cellulaire qui était plus élevée en milieu côtier. En effet, le picophytoplancton exploite mieux les fortes lumières. En milieu côtier, les conditions de croissance sont donc meilleures pour celui-ci.

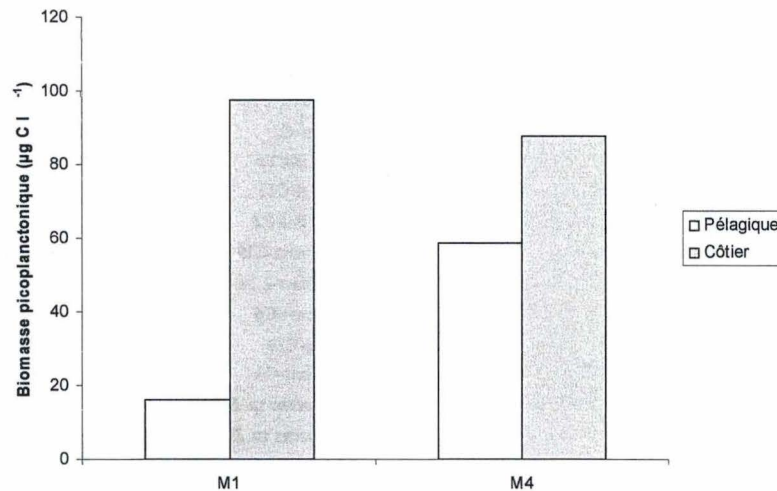


Figure 60 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des biomasses picoplanctoniques estimées par microscopie à épifluorescence pour deux sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

### 3. Les différents paramètres de la photosynthèse

Sur base des incubations destinées à l'estimation de la production primaire, nous avons pu établir des courbes photosynthèse – lumière pour les deux milieux étudiés. Les différents paramètres de la photosynthèse, que sont  $P_{max}$  et  $I_k$ , ont été déterminés à partir des courbes photosynthèse – lumière pour la zone pélagique (Fig. 61) et pour la zone littorale (Fig. 62).

A partir de ces deux paramètres, nous pouvons tenter de comparer la population phytoplanctonique du milieu pélagique à celle du milieu côtier au point de vue physiologie.

Pour le milieu pélagique, nous avons obtenu des capacités photosynthétiques ( $P_{max}$ ) comprises entre 5,00 et 9,49  $\mu\text{g C } (\mu\text{g chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$  avec une valeur moyenne de 6,85  $\mu\text{g C } (\mu\text{g chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

En milieu côtier, ces valeurs étaient comprises entre 1,74 et 6,69 avec une valeur moyenne de 4,23  $\mu\text{g C } (\mu\text{g chl } a)^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

En zone pélagique, les valeurs de l'intensité au seuil de saturation ( $I_k$ ) étaient comprises entre 190 et 514  $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  avec une valeur moyenne de 339  $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

En zone littorale, elles étaient comprises entre 279 et 646  $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  avec une valeur moyenne de 467  $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

Le rapport de la capacité photosynthétique sur l'intensité au seuil de saturation nous donne le paramètre  $\alpha$  ( $= P_{max}/I_k$ ) servant à mesurer l'efficacité photosynthétique. Ce dernier présente des valeurs comprises entre 0,43 et 0,62  $\text{nmol C } (\text{mg chl } a)^{-1} (\text{E m}^{-2})^{-1}$  avec une moyenne de 0,49  $\text{nmol C } (\text{mg chl } a)^{-1} (\text{E m}^{-2})^{-1}$  en milieu pélagique.

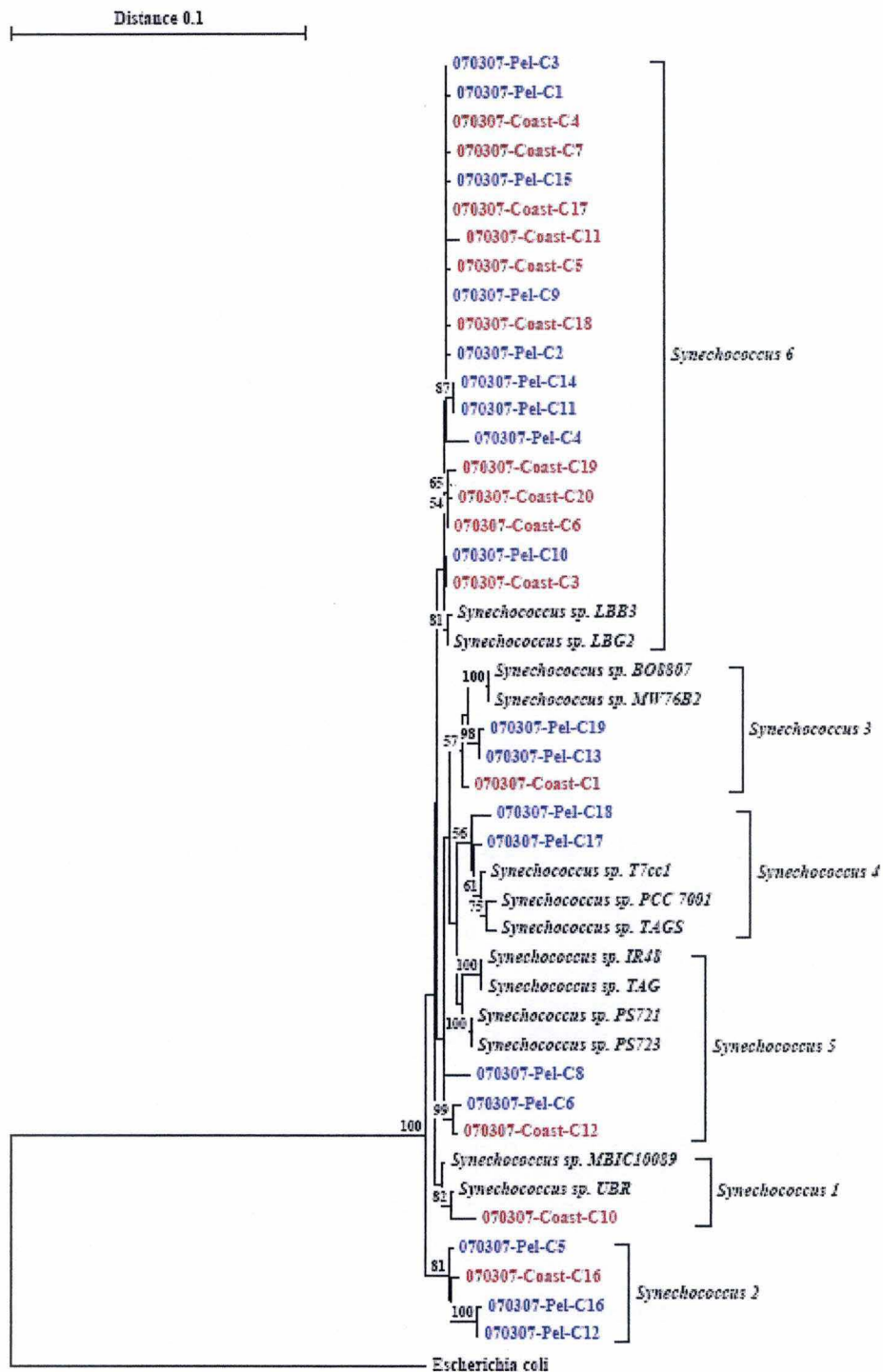


Figure 63 : Arbre de distance (Neighbor-joining) construit sur base de 685 positions de l'ARN ribosomique 16S. Les séquences de référence les plus similaires ainsi que l'outgroup apparaissent en noir. Les séquences en bleu (date-milieu-clone) proviennent du milieu pélagique (20 mètres de profondeur) et les séquences en rouge (date-milieu-clone) proviennent du milieu littoral. La distance entre deux organismes, en substitutions par nucléotide, est obtenue en sommant les branches horizontales qui les connectent. Les nombres apparaissant aux nœuds indiquent la fréquence à laquelle le cluster obtenu à partir de ce nœud a été trouvé dans un rééchantillonnage de 100 bootstraps. Les valeurs de bootstrap inférieures à 50 ne sont pas indiquées.

En milieu côtier, les valeurs étaient comprises entre 0,15 et 0,24 nmol C (mg chl  $a$ )<sup>-1</sup> (E m<sup>-2</sup>)<sup>-1</sup> avec une valeur moyenne de 0,20 nmol C (mg chl  $a$ )<sup>-1</sup> (E m<sup>-2</sup>)<sup>-1</sup>.

Les plus faibles valeurs de  $\alpha$  obtenues en zone littorale étaient attendues. En effet, le phytoplancton de cet écosystème s'acclimata à l'environnement lumineux de cette zone par des  $I_k$  supérieurs comme nous pouvons le voir en comparant les relations photosynthèse – lumière de ces deux milieux (Fig. 61 ; Fig. 62).

Nous avons estimé la production primaire en milieu pélagique et en milieu côtier grâce à la formule de Talling. En zone pélagique, nous avons obtenu des valeurs comprises entre 249 et 393 mg C m<sup>-2</sup> j<sup>-1</sup> tandis qu'en zone littorale les valeurs étaient comprises entre 112 et 297 mg C m<sup>-2</sup> j<sup>-1</sup>.

La production primaire en milieu côtier est sensiblement plus faible que celle mesurée pour le milieu pélagique. Ce résultat peut *a priori* paraître paradoxal, puisqu'en zone littorale les intensités lumineuses sont nettement supérieures à celles en milieu pélagique. Cependant, le phytoplancton de la zone littorale montre une adaptation au climat lumineux plus intense par une réduction de son efficacité photosynthétique, qui est environ deux fois plus faible que celle du phytoplancton de la zone pélagique (voir valeurs ci-dessus).

#### 4. Production primaire fractionnée

Lors de notre échantillonnage, nous avons également incubé des échantillons d'eau du mélange pélagique et du mélange côtier en présence de carbone radioactif pour estimer la production primaire fractionnée sur base de filtrations différentielles (tailles supérieure et inférieure à 2  $\mu$ m).

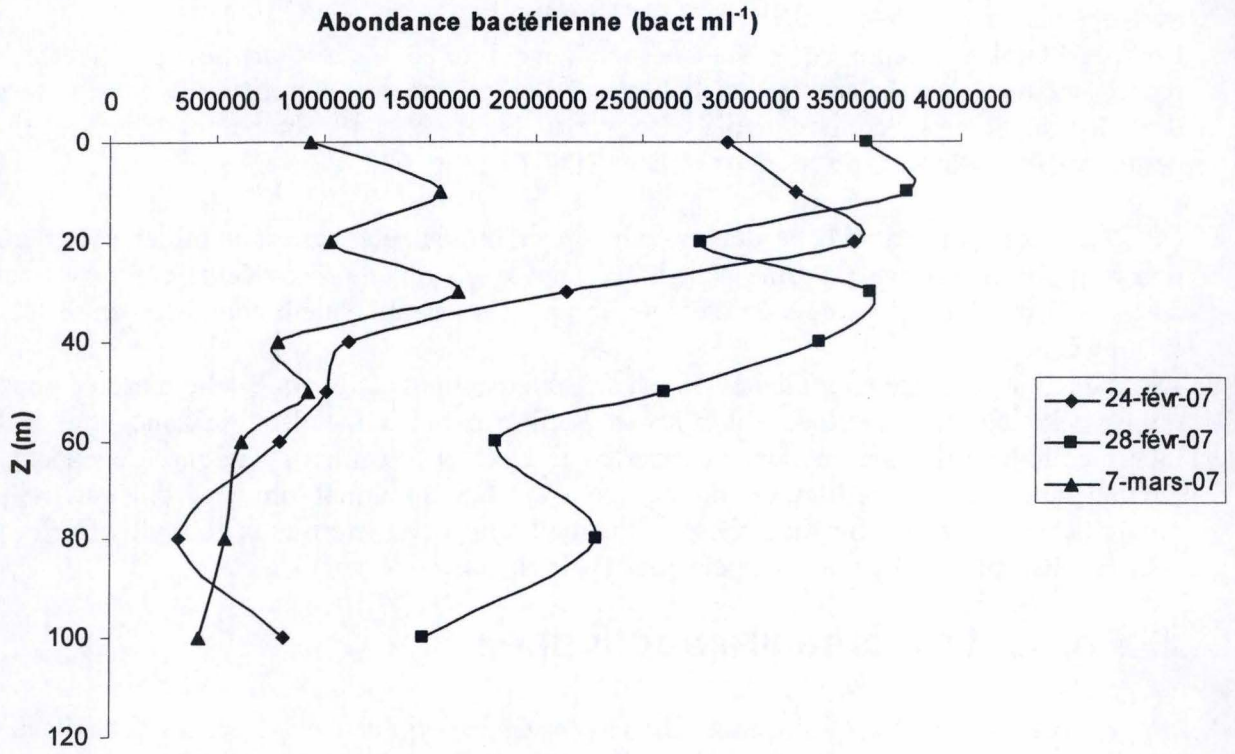
Si l'on compare le milieu pélagique au milieu côtier, nous obtenons des valeurs moyennes de contribution de la fraction picoplanctonique à la production primaire de 64 % en milieu pélagique et de 67 % en milieu côtier.

#### 5. Diversité des picocyanobactéries

Au cours de cette étude, deux bibliothèques de clones ont été construites à partir de l'ADN provenant d'un échantillon picoplanctonique du milieu pélagique (M3, 20 mètres de profondeur) et d'un échantillon picoplanctonique du milieu côtier, comme décrit par Taton *et al.* (2003). 14 et 18 clones recombinants ont été obtenus et séquencés, pour les milieux côtier et pélagique, respectivement. Les séquences ont été corrigées manuellement et l'existence de chimères a été testée avec CheckChimera.

Les 18 séquences du milieu pélagique (070307-Pel-Cx) et les 14 séquences du milieu côtier (070307-Coast-Cx) ont été alignées avec un outgroup (*Escherichia coli*) et avec 13 séquences de référence, choisies comme ayant le plus haut pourcentage de similitude suite à une analyse BLAST. Les 685 positions où pratiquement toutes les séquences avaient des positions ont été utilisées. Une matrice de distance a été calculée avec la correction de Jukes & Cantor et un arbre (Fig. 63) construit par la méthode de Neighbor-joining avec le programme TREECON (Van De Peer & De Wachter, 1994). Une analyse de bootstrap impliquant 100 rééchantillonnages a été réalisée.

La topologie de l'arbre montre que six groupes de *Synechococcus* peuvent être distingués. Les échantillons utilisés, qu'ils proviennent du milieu pélagique ou côtier, se répartissent globalement de façon homogène dans quatre groupes. Les deux autres groupes contiennent



**Figure 65 : Abondances bactériennes estimées par cytométrie de flux en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

uniquement un représentant côtier (groupe 1), ou uniquement deux représentants pélagiques (groupe 4).

Il est intéressant de comparer la provenance des diverses séquences de références auxquelles nos échantillons sont apparentés. Ainsi, le groupe 6 contient des séquences de référence (LBB3 et LBG2) provenant du lac Biwa, au Japon. Le groupe 3 s'apparente à des séquences originaires de deux lacs européens (Lac de Constance, en Allemagne et en Autriche, et Hallstättersee (Autriche)). Le groupe 5 contient des représentants du lac Biwa (PS721 et 723) mais aussi de milieux légèrement saumâtres (IR48 et TAG). Le groupe 4, qui ne contient que des échantillons pélagiques, s'apparente à des séquences originaires de Long Island (USA) ou du lac Biwa. Le groupe 1, dont le seul représentant provient du milieu côtier, s'apparente quant à lui à des souches provenant de marais légèrement saumâtres.

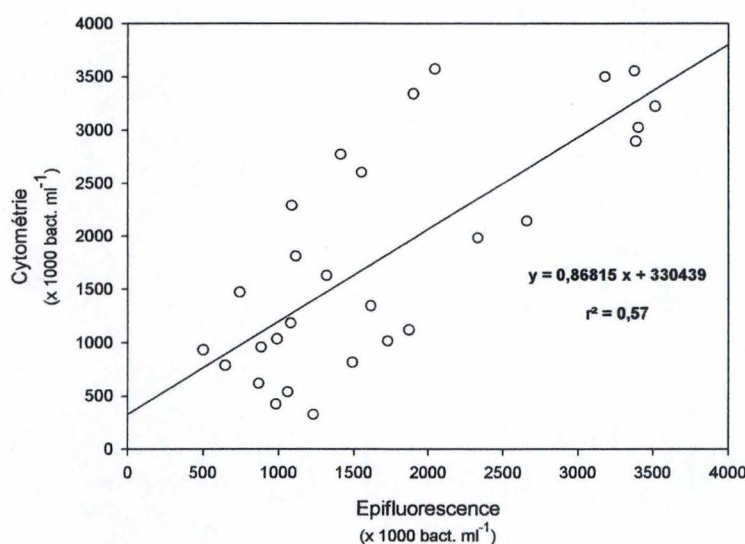
## 6. Le bactérioplancton

### 6.1. Abondance, biovolume et biomasse bactériens

Comme pour les picocyanobactéries, les abondances bactériennes ont été estimées sur base de deux méthodes : la microscopie à épifluorescence et la cytométrie de flux.

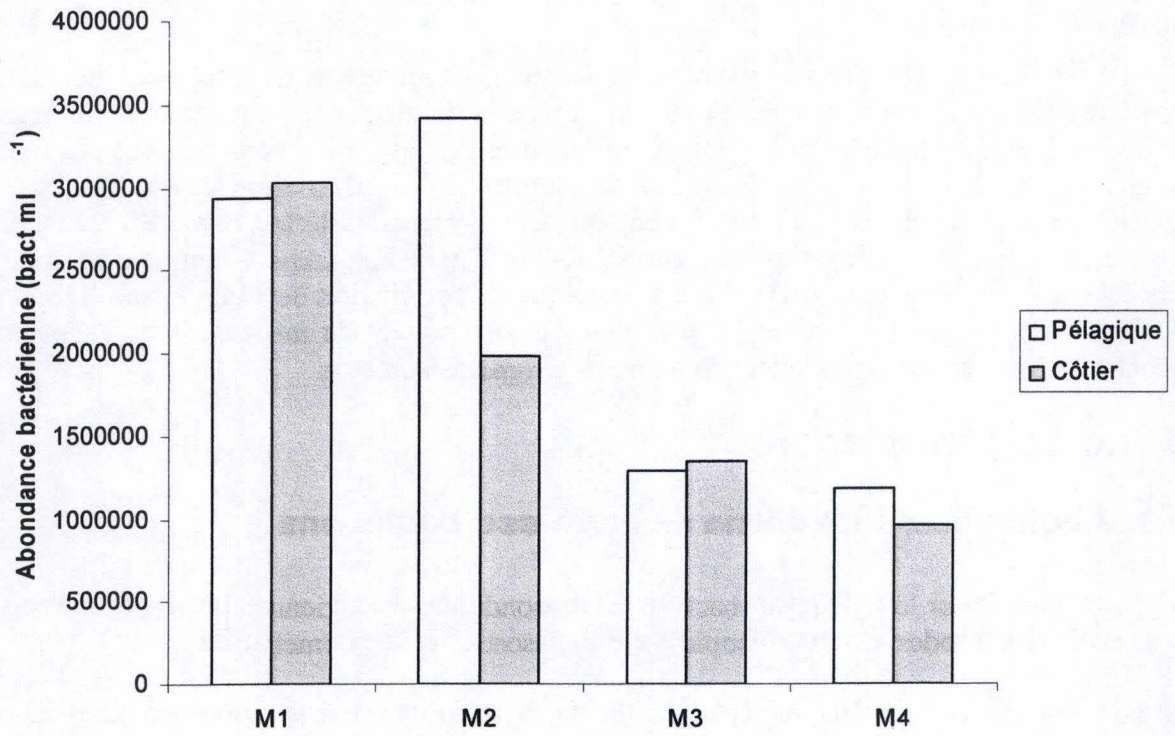
A nouveau, nous pouvons tenter d'établir la relation qui existe entre les abondances bactériennes obtenues par la microscopie à épifluorescence et celles obtenues par la cytométrie de flux ( $r^2 = 0,57$  ; Fig. 64).

Nous pouvons voir sur le graphique que la plupart des résultats sont surestimés par la méthode de la microscopie à épifluorescence. Nous prendrons donc plus en considération les résultats obtenus par les comptages en cytométrie de flux.



**Figure 64 : Corrélation entre les abondances bactériennes estimées par microscopie à épifluorescence et par cytométrie de flux à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

En cytométrie de flux, nous pouvons observer une diminution de l'abondance bactérienne en fonction de la profondeur (Fig. 65). Il existe également un pic d'abondance aux alentours de 10 – 20 mètres de profondeur qui peut être mis en relation avec le pic de biomasse phytoplanctonique existant aux mêmes profondeurs. Le phytoplancton excrète du carbone organique dissous (DOC, dissolved organic carbon) qui peut être réassimilé par les



**Figure 66 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des abondances bactériennes estimées par cytométrie de flux lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007**

bactéries (production primaire dissoute). En effet, comme nous l'avons déjà dit précédemment, c'est le point de départ de la boucle microbienne.

L'abondance bactérienne moyenne sur toute la colonne d'eau s'élevait à  $1,83 \times 10^6$  bactéries par millilitre.

Les cytogrammes des profils bactériens nous ont également permis de distinguer les bactéries LNA des bactéries HNA. Les valeurs moyennes sur toute la colonne d'eau du lac Tanganyika étaient de  $0,74 \times 10^6$  bactéries par millilitre pour les LNA et de  $1,09 \times 10^6$  bactéries par millilitre pour les HNA. Pour le milieu côtier, les valeurs moyennes étaient de  $0,64 \times 10^6$  bactéries par millilitre pour les LNA et de  $1,47 \times 10^6$  bactéries par millilitre pour les HNA. La proportion de bactéries HNA paraît donc un peu plus élevée en zone côtière, ce qui cadre bien avec une richesse plus grande de ce milieu en nutriments et matières organiques.

Si l'on compare le milieu pélagique (0 à 30 mètres) au milieu côtier pour les quatre sorties, les abondances bactériennes étaient généralement plus ou moins similaires ou supérieures en milieu pélagique (Fig. 66). Nous obtenons, en effet, des valeurs moyennes de  $2,55 \times 10^6$  bactéries par millilitre en milieu pélagique et de  $2,12 \times 10^6$  bactéries par millilitre en milieu côtier.

En ce qui concerne les biovolumes et les biomasses bactériens, ceux-ci n'ont été déterminés que par la méthode de microscopie à épifluorescence.

Les biovolumes, le long de la colonne d'eau en milieu pélagique, varient avec la profondeur (Fig. 67). Nous pouvons observer un biovolume plus faible aux alentours de 10 – 20 mètres de profondeur. Celui-ci augmente à nouveau au-delà de cette profondeur mais reste relativement constant sur la colonne d'eau.

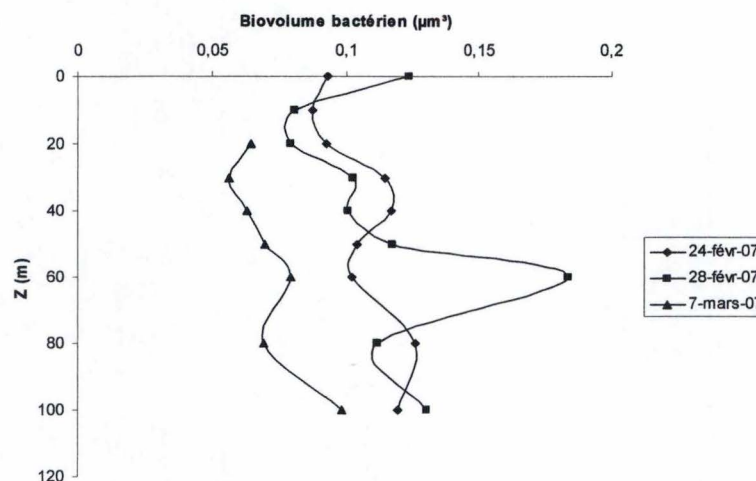


Figure 67 : Biovolumes bactériens estimés par microscopie à épifluorescence en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Tout comme pour le picophytoplancton, ces faibles biovolumes dans l'épilimnion peuvent être mis en relation avec une abondance plus importante de prédateurs dans cette zone. A nouveau, ils pourraient être mis en relation avec les faibles quantités en nutriments présentes dans l'épilimnion.



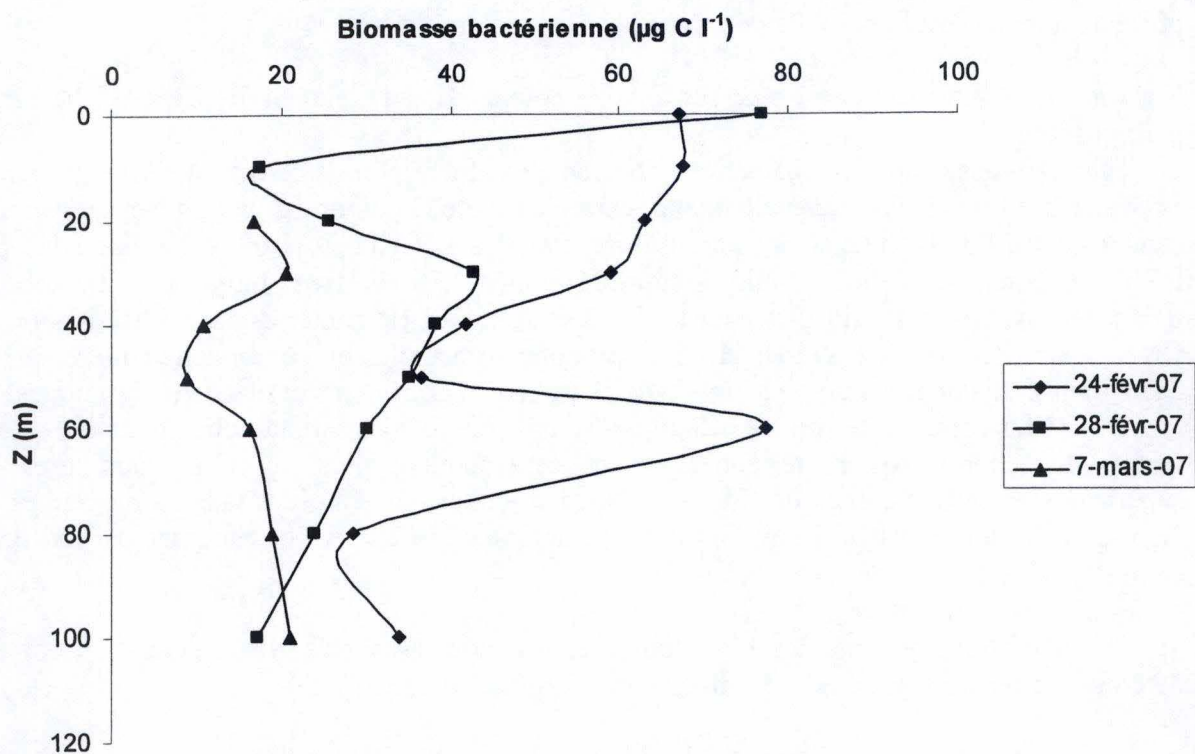


Figure 69 : Biomasses bactériennes estimées par microscopie à épifluorescence en fonction de la profondeur pour les trois premières sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

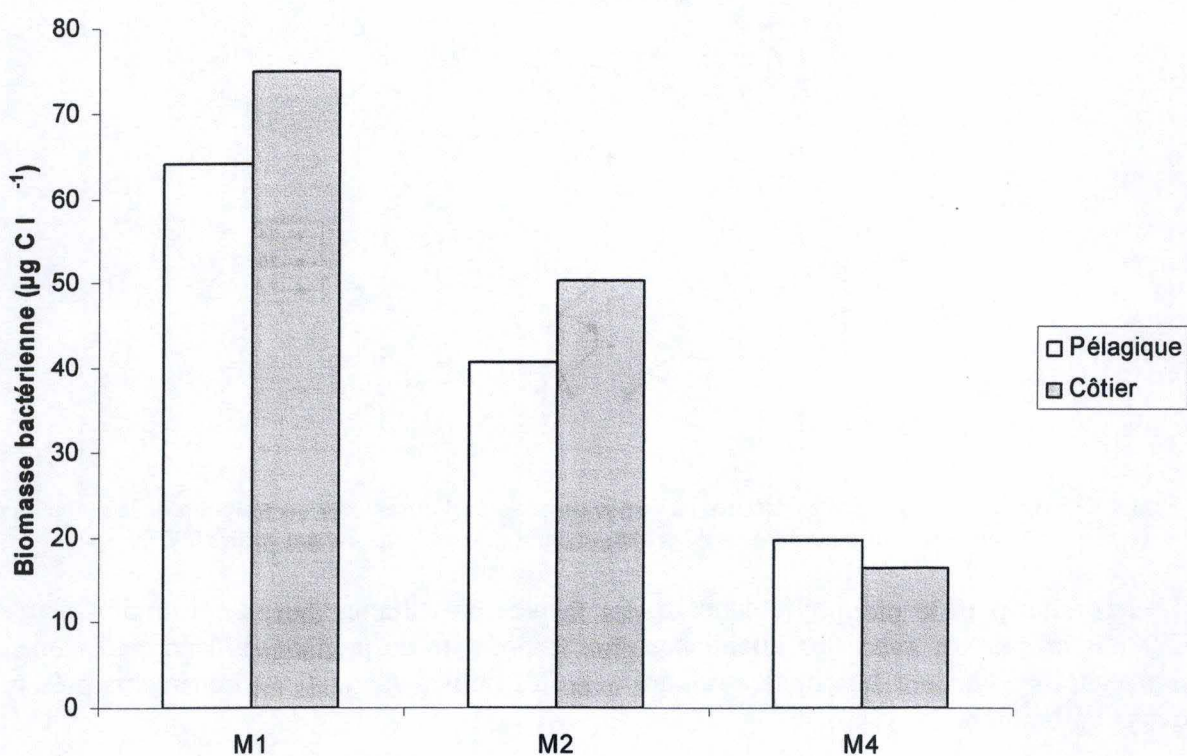


Figure 70 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des biomasses bactériennes estimées par microscopie à épifluorescence pour trois sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

La comparaison des deux milieux étudiés montre que les biovolumes bactériens sont généralement supérieurs en milieu côtier (Fig. 68).

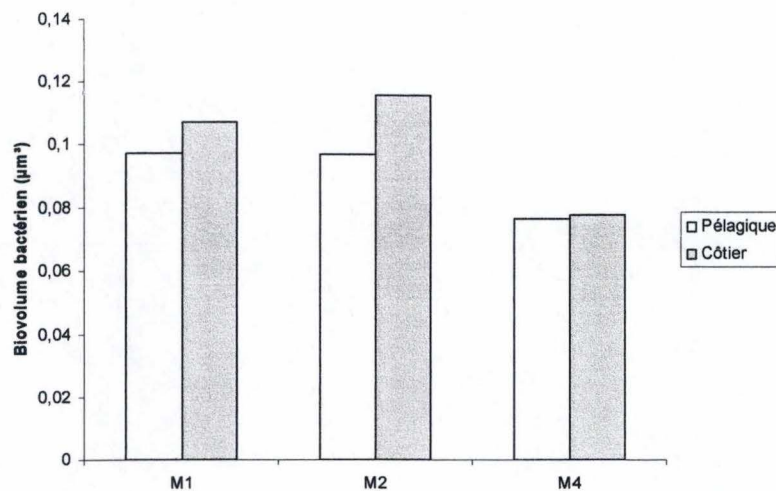


Figure 68 : Comparaison pélagique (0 – 30 mètres) – côtier des biovolumes bactériens estimés par microscopie à épifluorescence pour trois sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Si l'on observe les profils de la biomasse bactérienne en fonction de la profondeur, nous pouvons voir une diminution de la biomasse avec la profondeur (Fig. 69).

Les valeurs de biomasse bactérienne sont comprises entre 23,7 et 72  $\mu\text{g C l}^{-1}$ . Nous pouvons comparer nos valeurs à celles proposées par Pirlot *et al.* (2006). En 2002, en saison des pluies et à Mpulungu, ces dernières étaient comprises entre 17,6 et 48,7  $\mu\text{g C l}^{-1}$ . Les valeurs obtenues durant la saison des pluies 2007 à Mpulungu étaient toutefois légèrement plus élevées que celles obtenues par Pirlot *et al.* (2006)

Si l'on compare les deux milieux étudiés, les valeurs de biomasse bactérienne sont généralement un peu plus élevées en milieu côtier (Fig. 70). Nous obtenons une valeur moyenne de 47,57  $\mu\text{g C l}^{-1}$  en milieu pélagique et une valeur moyenne de 50,69  $\mu\text{g C l}^{-1}$  en milieu côtier.

## 6.2. Production bactérienne

Les estimations des productions bactériennes en milieu pélagique et en milieu côtier ont été réalisées sur base de la méthode d'incorporation de thymidine tritiée. Les valeurs obtenues ont ensuite été intégrées sur la hauteur de la colonne d'eau et peuvent donc être comparées aux valeurs obtenues pour la production primaire. Les valeurs obtenues en milieu pélagique sont comprises entre 27 et 63  $\text{mg C m}^{-2} \text{j}^{-1}$  tandis que celles obtenues en milieu côtier sont comprises entre 28 et 49  $\text{mg C m}^{-2} \text{j}^{-1}$ . Nous obtenons des valeurs moyennes, respectivement en milieu pélagique et en milieu côtier, de 40,1  $\text{mg C m}^{-2} \text{j}^{-1}$  et de 37,7  $\text{mg C m}^{-2} \text{j}^{-1}$ .

Si nous exprimons nos résultats en milligrammes de carbone par mètre cube et par jour, nous obtenons des valeurs moyennes de 1,1  $\text{mg C m}^{-3} \text{j}^{-1}$  en milieu pélagique et de

1,3 mg C m<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup> en milieu côtier. Nos valeurs peuvent être comparées à celles de Pirlot (2006) qui étaient comprises entre 0,1 et 17 mg C m<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup> en milieu pélagique.

Comme les estimations de la production primaire et de la production bactérienne ont été réalisées aux mêmes dates, nous pouvons tenter de voir s'il existe une corrélation entre les deux. En milieu côtier, cette corrélation peut être vérifiée : plus la production primaire augmente plus la production bactérienne augmente aussi ce qui indique bien qu'il existe une relation entre production primaire et production bactérienne (Fig. 71).

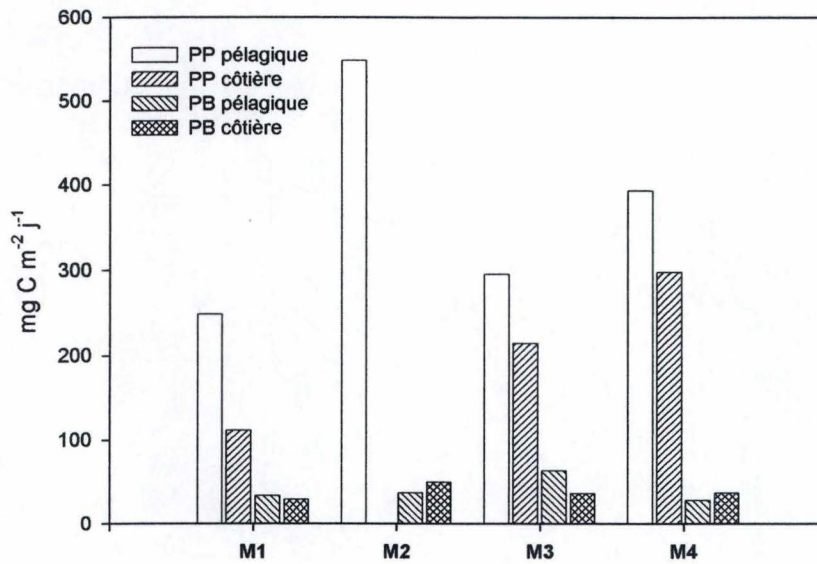


Figure 71 : Relation entre les es productions primaires et les productions bactériennes pour les milieux pélagique et côtier lors des quatre sorties à Mpulungu durant la saison des pluies 2007

Discussion générale,  
conclusions et  
perspectives

## 1. Discussion générale

L'analyse des résultats de cette étude nous a permis de dégager les caractéristiques générales et d'en apprendre plus sur le milieu côtier jusqu'ici peu étudié.

Toutefois, il faut garder à l'esprit que les mesures ont été réalisées à quelques jours d'intervalle. En effet, les échantillonnages ne reflètent que le moment précis auquel ils ont été réalisés puisque les conditions peuvent fortement varier entre deux prélèvements. Les conclusions que nous pouvons tirer sur base de ces résultats ne sont donc que des hypothèses.

Nous avons pu montrer que, lors de la saison des pluies, la température élevée des eaux entraîne des différences de densité des masses d'eau et permet la stratification stable de la colonne d'eau du lac Tanganyika. En milieu côtier, les températures sont encore plus élevées qu'en milieu pélagique mais aucune stratification ne s'établit à cause de la faible profondeur de la colonne d'eau (profondeur maximale de 8 mètres).

La profondeur de la zone de mélange était relativement faible (environ 24 mètres de profondeur en pélagique) ce qui entraîne, généralement, des rapports entre la profondeur de la zone de mélange et la profondeur de la zone photique ( $Z_m : Z_{eu}$ ) inférieurs à l'unité. En milieu côtier, le mélange se produit sur toute la hauteur de la colonne d'eau et ne dépasse jamais la zone photique ce qui garantit des rapports  $Z_m : Z_{eu}$  encore plus faible et donc un éclaircissement moyen plus important de la zone de mélange que dans la zone pélagique.

Le climat lumineux détermine largement la composition en espèces du phytoplancton. En saison des pluies, le rapport  $Z_m : Z_{eu}$  en milieu pélagique dépasse rarement l'unité. De ce fait, les assemblages phytoplanctoniques seront dominés principalement par des espèces typiquement photophiles telles que les cyanobactéries de type T1 (type pigmentaire *Synechococcus*, avec de fortes concentrations en zéaxanthine, pigment photoprotecteur) et les chlorophytes (Coulter, 1991). En milieu côtier, les picocyanobactéries étaient également dominantes suite à leur bonne adaptation aux intensités lumineuses plus fortes reçues.

En saison des pluies, les concentrations en nutriments dissous dans les eaux du lac Tanganyika étaient très faibles et ceci aussi bien en milieu pélagique qu'en milieu côtier. En général, les concentrations en ammonium étaient supérieures en milieu côtier peut être suite au recyclage des nutriments plus important et par les apports par ruissellement des eaux de pluies sur le sol.

Les rapports C : N et C : P atomiques moyens ont montré qu'il existe une limitation modérée par l'azote et le phosphore dans ces deux milieux lors de la saison des pluies, sans différence notable.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux abondances picoplanctoniques en milieu pélagique et en milieu côtier. Pour cette estimation, nous avons eu recours à deux méthodes différentes : la microscopie à épifluorescence d'une part et la cytométrie de flux d'autre part.

La microscopie à épifluorescence se base sur le comptage de cellules grâce à leur auto-fluorescence rouge. Au nombre total de cellules comptées, nous appliquons un filtre de tailles allant de 0,4 à 2  $\mu\text{m}$  pour ne tenir compte que du picoplancton qui nous intéresse ici.

La cytométrie de flux permet également le comptage des cellules sur base de leur taille (SSC-H), de leur fluorescence rouge (FL3-H) et de leur fluorescence orange (FL2-H). Sur les

cytogrammes obtenus après comptage, nous pouvons nous-mêmes délimiter la zone correspondant aux *Synechococcus*.

En microscopie à épifluorescence comme en cytométrie de flux, nous obtenons des abondances picoplanctoniques supérieures en milieu côtier.

Les valeurs obtenues grâce à ces deux méthodes sont en accord, bien qu'elles soient plus faibles en cytométrie de flux. Comme nous l'avons déjà dit auparavant, la corrélation qui s'établit entre les deux méthodes montre clairement une surestimation des abondances cellulaires par la microscopie à épifluorescence.

Nous avons donc, sur base de cette corrélation, décidé de tenir compte des valeurs d'abondance picoplanctonique obtenues par cytométrie de flux. En effet, la microscopie à épifluorescence est une technique subjective se basant sur un nombre défini de photographies. De plus, les cellules comptées ne sont pas exclusivement des *Synechococcus*. En effet, pour en être certain il faudrait vérifier la fluorescence de la phycoérythrine. Cette dernière étant souvent très faible, il nous est impossible d'en effectuer une vérification.

Enfin, nous appliquons des bornes de taille à l'ensemble des résultats obtenus mais peut-être que ces bornes ne délimitent pas exclusivement le picophytoplancton.

La microscopie à épifluorescence permet également de calculer la biomasse picophytoplanctonique sur base des biovolumes cellulaires estimés.

Comme nous le savons déjà, les cyanobactéries de type T1 dominent les assemblages phytoplanctoniques lors de la saison des pluies au lac Tanganyika. Nous savons également que les picocyanobactéries sont d'excellents compétiteurs dans ces eaux oligotrophes puisque leur taille réduite leur donne un rapport surface : volume, ce qui permet une meilleure assimilation des nutriments présents en faibles concentrations.

Ceci a pu être confirmé par les profils de biovolume tout au long de la colonne d'eau (de 0 à 100 mètres de profondeur). Le biovolume cellulaire le plus petit a été enregistré dans l'épilimnion là où les concentrations en nutriments sont très faibles mais également où les brouteurs sont en abondance plus importante. Ceux-ci peuvent en effet ingérer préférentiellement les plus grandes cellules d'une population de micro-organismes, ne laissant que les plus petites (Pernthaler, 2005).

La biomasse picoplanctonique (exprimée en  $\mu\text{g C l}^{-1}$ ) se concentrait aux alentours de 10 mètres de profondeur. Ceci est en accord avec les données d'abondance picoplanctonique estimées par microscopie à épifluorescence mais également avec les données de biomasse totale (exprimée en  $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$ ). La biomasse picophytoplanctonique semblerait donc suivre la biomasse phytoplanctonique totale et ce également en milieu côtier.

En ce qui concerne la production primaire, nous avons estimé différents paramètres. En milieu pélagique, nous avons obtenu une capacité photosynthétique moyenne supérieure à celle obtenue pour le milieu côtier. Les valeurs moyennes d'intensité au seuil de saturation ( $I_k$ ) que nous avons enregistré au cours de la période d'échantillonnage étaient supérieures en milieu côtier. Cette valeur plus haute pourrait être due à un assemblage phytoplanctonique constitué essentiellement d'algues de type photophile (picocyanobactéries, chlorophytes) lors de nos échantillonnages. Ceci peut se vérifier sur les courbes photosynthèse – lumière qui ne présentent généralement pas de photo-inhibition.

Nos valeurs moyennes pour alpha étaient plus faibles en milieu côtier qu'en milieu pélagique. Ces faibles efficacités photosynthétiques montrent que les algues vivant dans cet environnement littoral se sont probablement acclimatées aux conditions de forte lumière en

modifiant leur réponse photosynthétique. A nouveau ceci peut s'observer sur les courbes photosynthèse – lumière.

Nous avons également réalisé différentes expériences de fractionnement comme celles de la biomasse algale et de la production primaire. Ces expériences ont été réalisées dans le but de montrer l'importance de la fraction de taille picoplanctonique (taille inférieure à 2  $\mu\text{m}$ ) aussi bien en milieu pélagique qu'en milieu côtier au lac Tanganyika lors de la saison des pluies 2007.

Au point de vue biomasse fractionnée, nous retrouvons une contribution d'environ 60 % de la fraction picoplanctonique dans les deux milieux comparés ici. Bell & Kalff (2001) proposaient également que le picophytoplancton, dans les eaux douces (ultra)oligotrophes, contribue généralement à plus de 50 % de la biomasse totale. Ces valeurs sont en accord avec celles obtenues lors de cette étude.

Si nous considérons maintenant la production primaire fractionnée, les valeurs sont similaires à celles fournies par les expériences de biomasse fractionnée. En effet, la fraction picoplanctonique présente des contributions à la production primaire journalière totale de 64 % et 67 %, respectivement en milieu pélagique et en milieu côtier.

Ces deux expériences nous ont permis de montrer l'importance particulière de la fraction picoplanctonique tant au niveau biomasse qu'au niveau production primaire dans les deux milieux étudiés. Cette même contribution du picoplancton à la biomasse et à la production primaire avait déjà été étudiée dans différents systèmes marins oligotrophes (Agawin *et al.*, 2000).

La dominance de cette fraction dans les milieux oligotrophes, marins ou dulcicoles, est basée sur leur petite taille cellulaire. En effet, ces cellules, du fait de leur taille réduite, ont une grande surface par unité de volume. Le picoplancton possède donc un avantage, comparé au plancton de taille plus grande, qui est une meilleure capacité d'assimilation des nutriments peu présents. Il semblerait donc normal de voir les populations picoplanctoniques dominer dans ce milieu dulcicole oligotrophe qu'est le lac Tanganyika.

Ceci peut être vérifié lorsqu'on observe la composition algale de cette fraction. En effet, celle-ci est composée majoritairement des picocyanobactéries.

Nous avons également réalisé une approche génétique sur les populations picoplanctoniques présentes en zones pélagique et littorale. Cette approche permet de voir s'il existe des différences au niveau génétique dans ces deux populations. Sur base de clones séquencés et de séquence de référence, nous avons pu construire un arbre phylogénétique. Les échantillons utilisés, soit du milieu pélagique soit du milieu côtier, se répartissent globalement de façon homogène dans quatre des six groupes. De manière générale, nos séquences de *Synechococcus* sont affiliées à d'autres provenant de lacs d'eau douce, mais également d'eaux saumâtres.

Simultanément aux analyses portant sur le phytoplancton, nous avons réalisé des expériences similaires sur le bactérioplancton. Ces expériences ont permis de déterminer l'abondance bactérienne par microscopie à épifluorescence et par cytométrie de flux ainsi que la biomasse bactérienne (basée sur des estimations de biovolume) par microscopie à épifluorescence et pour finir la production bactérienne par la méthode d'incorporation de thymidine tritiée.

Les abondances bactériennes estimées par microscopie à épifluorescence étaient généralement supérieures à celles déterminées grâce à la cytométrie de flux.

A nouveau, si l'on établit une corrélation entre les deux méthodes, nous pouvons voir que la microscopie à épifluorescence surestime les abondances bactériennes. En effet, en microscopie à épifluorescence, nous pouvons compter des cellules qui ne sont pas des bactéries. La cytométrie de flux est ici plus objective et plus spécifique puisque nous avons utilisé un colorant spécifique et que les populations sont bien circonscrites. C'est pourquoi, en terme d'abondance bactérienne, nous tiendrons également compte des résultats de la cytométrie de flux.

La microscopie à épifluorescence reste néanmoins la méthode la plus sûre pour une estimation plus fiable des biovolumes bactériens.

Si l'on compare les valeurs obtenues par la cytométrie de flux pour les abondances picophytoplanctoniques et bactériennes, nous pouvons voir que les bactéries sont beaucoup plus nombreuses que le picophytoplancton dans les deux milieux.

L'augmentation du nombre de cellules bactériennes suit celle du nombre de cellules picoplanctoniques. En effet, les bactéries hétérotrophes utilisent le carbone excrété par le phytoplancton. Il est donc logique de retrouver plus de bactéries hétérotrophes là où il y a plus de phytoplancton et donc plus d'excrétion de DOC.

En ce qui concerne le biovolume bactérien, le profil en milieu pélagique est plus ou moins similaire à celui retrouvé pour le picophytoplancton. La taille cellulaire la plus petite a été enregistrée là où les nutriments sont en faibles concentrations et où les brouteurs sont présents en plus grand nombre. En effet, les bactéries hétérotrophes, tout comme le picophytoplancton, entrent en compétition avec les algues pour les nutriments (Fogg, 1986, *in* Drakare *et al.*, 2002). En milieu côtier, le biovolume bactérien était similaire au biovolume moyen en milieu pélagique.

Si nous observons la biomasse bactérienne, nous avons obtenu une valeur moyenne supérieure en zone littorale. Ceci pourrait être expliqué par la proximité des terres pour le milieu côtier. En effet, en saison des pluies, des matières organiques peuvent être entraînées dans les eaux du lac. Ces matières organiques allochtones pourront donc être dégradées par les bactéries. Nous pouvons également émettre l'hypothèse qu'en milieu côtier, les algues excrètent plus et donc que les bactéries assimilent plus de carbone organique dissous.

Les valeurs moyennes de production bactérienne, intégrées sur la colonne d'eau, ont pu être comparées aux valeurs de production primaire journalière brute obtenues pour les mêmes dates. Beaucoup d'études réalisées sur le milieu marin ont montré qu'il existe une corrélation positive entre production bactérienne et production phytoplanctonique (Azam *et al.*, 1983). Nous avons pu vérifier cette corrélation pour le milieu côtier uniquement.

En milieu côtier, la production bactérienne était en moyenne de 18,2 % de la production phytoplanctonique tandis qu'en milieu pélagique elle était en moyenne de 9,9 %.



## 2. Conclusions et perspectives

Nous savons déjà qu'en milieu pélagique, le phytoplancton produit de la matière organique grâce à la photosynthèse. Cette matière organique pourra être transférée vers les niveaux trophiques supérieurs. Nous savons également que, dans ce même milieu, la fraction picoplanctonique contribue grandement à la biomasse phytoplanctonique totale ainsi qu'à la production primaire totale.

Cette étude nous a permis d'étudier le milieu côtier pour lequel beaucoup de choses restent encore inconnues. Elle nous a permis de montrer que, tout comme en milieu pélagique, la fraction picoplanctonique (taille inférieure à 2  $\mu\text{m}$ ) dominait la biomasse phytoplanctonique totale ainsi que la production primaire totale. Au niveau abondances picoplanctonique et bactérienne, elles sont également supérieures dans ce milieu.

Il serait intéressant de reproduire les mêmes expériences que celles réalisées au cours de cette étude mais durant la saison sèche. Une étude s'étalant sur plusieurs années permettrait d'obtenir un suivi temporel des populations phytoplanctoniques et bactériennes en milieu côtier et ce simultanément à celles du milieu pélagique. Nous pourrions également multiplier les échantillonnages en différents sites, en milieu pélagique et en milieu côtier, au cours d'une même saison.

Il serait également intéressant de mesurer la production primaire totale et primaire fractionnée sur de plus grandes périodes de temps dans ces deux milieux afin de pouvoir comparer les milieux pélagique et côtier mais afin également de pouvoir établir les éventuelles relations qui peuvent exister entre la production primaire et la production bactérienne dans ces deux milieux.

Une étude sur la production primaire dissoute en zone littorale pourrait également être envisagée pour tenter de mieux comprendre la boucle microbienne dans cet écosystème.

En ce qui concerne l'approche génétique, il serait prématuré de tirer des conclusions à ce stade. En effet, le nombre d'échantillons étudié est encore limité. Nos séquençages ont été effectués dans le sens 'reverse' (amorce 16S1092R (GCG CTC GTT GCG GGA CTT)). Un nouveau séquençage de nos échantillons, effectué dans l'autre sens (forward; amorce 16S359F (GGG GAA TTT TCC GCA ATG GG)) permettrait aussi de lever les incertitudes qui subsistent sur certaines substitutions de nucléotides. Des analyses plus précises pourraient également être réalisées en séquençant, pour des séquences représentatives de nos échantillons, l'entièreté de l'ARN ribosomique 16S, ainsi que le gène codant pour l'ITS. Ces différents groupes de séquences rencontrés correspondent probablement à des organismes ayant des réponses écologiques différentes, qu'il serait également intéressant d'approcher.

Nous pourrions, ensuite, réaliser des expériences portant sur le taux de broutage du phytoplancton et plus particulièrement du picophytoplancton en milieu côtier. Ces expériences ont été réalisées dans le cadre d'une étude en parallèle lors de la saison des pluies 2007 à Mpulungu (mémoire de Mélanie Lecomte) mais uniquement pour le milieu pélagique. Nous pourrions donc envisager de réaliser ces mêmes expériences en milieu côtier.

Références  
bibliographiques

Agawin N.S.R., C.M.D., S. Agustí, L. McManus Abundance, biomass and growth rates of *Synechococcus* sp. in a tropical coastal ecosystem (Philippines, South China Sea). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **56**, 493-502 (2003).

Agawin N.S.R., C.M.D., S. Agustí Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnol. Oceanogr.* **45(3)**, 591-600 (2000).

Azam F. , T.F., J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyer-Reil, F. Thingstad The ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **10**, 257-263 (1983).

Beadle, L.C. The inland waters of tropical Africa. (Longman, 1974).

Bell Thomas, J.K. The contribution of picophytoplankton in marine and freshwater systems of different trophic status and depth. *Limnol. Oceanogr.* **46(5)**, 1243-1248 (2001).

Biddanda Bopaiah, M.O., James Cotner Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. *Limnol. Oceanogr.* **46(3)**, 730-739 (2001).

Brahamsha, B. A genetic manipulation system for oceanic cyanobacteria of the genus *Synechococcus*. *Applied and Environmental Microbiology* **62**, 1747-1751 (1996).

Brock Thomas D., J.C. Significance of Algal Excretory Products for Growth of Epilimnetic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* **47**, 731-734 (1984).

Callieri C, S.K., S Passoni Grazing by ciliates and heterotrophic nanoflagellates on picocyanobacteria in Lago Maggiore, Italy. *Journal of plankton research* **24**, 785-796 (2002).

Callieri C., J.S. Picocyanobacteria success in oligotrophic lakes : fact or fiction ? *J. Limnol.* **59(1)**, 72-76 (2000).

Carpenter, S.R. Complex Interactions in Lake Communities (Springer-Verlag New York Inc., 1988).

Charles François, F.L., Sonia Brugel, Marie-Josèphe Chrétiennot-Dinet, Isabel Quiroga, Béatrice Rivière Seasonal survey of the phytoplankton biomass, composition and production in a littoral NW Mediterranean site, with special emphasis on the picoplanktonic contribution. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **65**, 199-212 (2005).

Chisholm, S.W. Phytoplankton size. *Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea*, 213-237 (1992).

Cole Jonathan J., G.E.L., David L. Strayer Photosynthetically produced dissolved organic carbon : An important carbon source for planktonic bacteria. *Limnol. Oceanogr.* **27(6)**, 1080-1090 (1982).

Cole Jonathan J., S.F., Michael L. Pace Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems a cross-system overview. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **43**, 1-10 (1988).

- Coulter, G.W. Lake Tanganyika and its life. (Natural History Museum Publications and Oxford University Press, 1991).
- Coulter, G.W. Thermal stratification in the deep hypolimnion of lake Tanganyika. 385-387 (1963).
- Crul, R.C.M. Management and conservation of the African Great Lakes, Vol. 59. (UNESCO, 1998).
- Currie David J., J.K. A comparison of the abilities of freshwater algae and bacteria to acquire and retain phosphorus. *Limnol. Oceanogr.* **29(2)**, 298-310 (1984).
- Daft M. J., W.D.P.S. Light and electron microscope observations on algal lysis by bacterium CP-1. *New Phytol.* **72**, 799-808 (1973).
- Degens Egon T., R.P.V.H., How-Kin Wong Lake Tanganyika : Water Chemistry, Sediments, Geological Structure. *Naturwissenschaften* **58**, 229-241 (1971).
- Descy J .-P., M.-A.H., S. Stenuite, S. Pirlot, B. Leporcq, I . Kimirei, B. Sekaende, S. R. Mwaitega, D. Sinyenza Phytoplankton pigments and community composition in Lake Tanganyika. *Freshwater Biology* **50**, 668–684 (2005).
- Drakare Stina, P.B., Ann-Kristin Bergström, Mats Jansson Primary production and phytoplankton composition in relation to DOC input and bacterioplankton production in humic Lake Öträsket. *Freshwater Biology* **47**, 41-52 (2002).
- Edmond J. M., R.F.S., H. Craig, V. Craig, R. F. Weiss, G. W. Coulter Nutrient chemistry of the water column of Lake Tanganyika. *Limnol. Oceanogr.* **38(4)**, 725-138 (1993).
- Fuhrman J. A., J.W.A., F. Azam Bacterioplankton in the Coastal Euphotic Zone : Distribution, Activity and Possible Relationships with Phytoplankton. *Marine Biology* **60**, 201-207 (1980).
- Fuller Nicholas J., D.M., Frédéric Partensky, Daniel Vaultot, Anton F. Post, David J. Scanlan Clade-Specific 16S Ribosomal DNA Oligonucleotides Reveal the Predominance of a Single Marine *Synechococcus* Clade throughout a Stratified Water Column in the Red Sea. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 2430-2443 (2003).
- Gasol, J.M. How to count picoalgae and bacteria with the FACScalibur flow cytometer. (Departament de Biologia Marina i Oceanografia, Institut de Ciències del Mar, CSIC. Barcelona, 1999).
- Guildford Stephanie J., R.E.H., William D. Taylor, Rose Mugidde, Harvey A. Bootsma Nutrient Enrichment Experiments in Tropical Great Lakes Malawi/Nyasa and Victoria. *J. Great Lakes Res.* **29 (Supplement 2)**, 89-106 (2003).
- Hecky R. E., E.J.F. Primary production and rates of algal growth in Lake Tanganyika. *Limnol. Oceanogr.* **26(3)**, 532-547 (1981).

- Hecky R. E., H.J.K. The phytoplankton and protozooplankton of the euphotic zone of Lake Tanganyika : Species composition, biomass, chlorophyll content, and spatio-temporal distribution. *Limnol. Oceanogr.* **26(3)**, 548-564 (1981).
- Hecky R. E., H.J.K. Phytoplankton ecology of the great lakes in the rift valleys of Central Africa. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* **25**, 197-228 (1987).
- Hecky R.E., E.J.F., H. Kling, J.W.M. Rudd Studies on the Planktonic Ecology of Lake Tanganyika. *Fisheries & Marine Service Technical Report No. 816* (1978).
- Hillebrand Helmut, C.-D.D., David Kirschtel, Utsa Pollinger, Tamar Zohary Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol.* **35**, 403-424 (1999).
- Honda Daisuke, A.Y., Junta Sugiyama Detection of Seven Major Evolutionary Lineages in Cyanobacteria Based on the 16S rRNA Gene Sequence Analysis with New Sequences of Five Marine *Synechococcus* Strains. *Journal of Molecular Evolution* **48**, 723-739 (1999).
- Huszar V. L. M., L.H.S.S., M. Marinho, P. Domingos, C. L. Sant'Anna Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters. *Hydrobiologia* **424**, 67-77 (2000).
- Jiao Nianzhi, Y.Y., Ying Ma, Shigeki Harada, Hiroshi Koshikawa, Masataka Watanabe Dynamics of autotrophic picoplankton and heterotrophic bacteria in the East China Sea. *Continental Shelf Research* **25**, 1265-1279 (2005).
- Jones, R.I. The influence of humic substances on lacustrine planktonic food chains. *Hydrobiologia* **229**, 73-91 (1992).
- Katano Toshiya, M.F. Molecular inference of dominant picocyanobacterial populations by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR amplified 16S rRNA gene fragments. *Phycological Research* **51**, 71-76 (2003).
- Kemp PF, A.J. Estimating prokaryotic diversity : When are 16S rDNA libraries large enough? *Limnology and Oceanography : Methods* **2**, 114-125 (2004).
- Kirk, J.T.O. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. (Cambridge University Press, 1983).
- Kroer, N. Bacterial growth efficiency on natural dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **38(6)**, 1282-1290 (1993).
- Leonard, L. Diversité génotypique et toxigénicité des cyanobactéries dans des lacs belges et africains. Travail de fin d'études, Liège (2005-2006).
- Lowe-McConnell, R. Recent research in the African Great Lakes : Fisheries, biodiversity and cichlid evolution. *Freshwater Forum* **20**, 1-64 (2003).
- Mackey, M.D., D. J. Mackey, H. W. Higgins, S. W. Wright CHEMTAX — A program for estimating class abundances from chemical markers : Application to HPLC measurements of phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **144**, 265-283 (1996).

- Malinsky-Rushansky Nechama Z., C.L. Excretion of dissolved organic carbon by phytoplankton of different sizes and subsequent bacterial uptake. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **132**, 249-255 (1996).
- Meel, L.I.J.V. Contribution à la limnologie de quatre grands lacs du Zaïre oriental : Tanganyika, Kivu, Mobutu Sese Seko (ex. Albert) Idi Amin Dada (ex. Edouard), Document de travail, Fascicules A et B. *Inst. Royal des Sciences Naturelles de Belgique*, 118 p (1987).
- Moreira-Turcq Patricia F., J.M.M. Characterisation of fine particles by flow cytometry in estuarine and coastal Arctic waters. *Journal of Sea Research* **39**, 217-226 (1998).
- Morris Donald P., W.M.L., Jr. Nutrient limitation of bacterioplankton growth in Lake Dillon, Colorado. *Limnol. Oceanogr.* **37**(6), 1179-1192 (1992).
- Naithani Jaya, E.D., Pierre-Denis Plisnier Analysis of Wind-Induced Thermocline Oscillations of Lake Tanganyika. *Environmental Fluid Mechanics* **3**, 23-29 (2003).
- Nielsen, E.S. The use of radioactive carbon ( $^{14}\text{C}$ ) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. perm. int. Explor. Mer.* **18**, 117-140 (1952).
- O'Reilly Catherine M., S.R.A., Pierre-Denis Plisnier, Andrew S. Cohen, Brent A. McKee Climate change decreases aquatic ecosystem productivity of Lake Tanganyika, Africa. *Nature* **424**, 766-768 (2003).
- Pernthaler, J. Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nat Rev Microbiology* **3**, 537-546 (2005).
- Pirlot, S. in Facultés des Sciences ; Département de Biologie 267 p. (FUNDP, Namur, 2006).
- Pirlot S., J.-P.D., Pierre Servais Corrigendum : Correction of biomass estimates for heterotrophic micro-organisms in Lake Tanganyika. *Freshwater Biology* (2006).
- Pirlot S., J.V., Jean-Pierre Descy, Pierre Servais Abundance and biomass of heterotrophic microorganisms in Lake Tanganyika. *Freshwater Biology* **50**, 1219-1232 (2005).
- Plisnier, P.-D. Limnological sampling during a second annual cycle (1994-1995) and some comparisons with year one on Lake Tanganyika. *Research for the management of the fisheries on Lake Tanganyika (GCP/RAF:271/FIN-TD/56 (En))* (1996).
- Robertson Bronwyn R. , N.T., Makoto M. Watanabe Phylogenetic analyses of *Synechococcus* strains (cyanobacteria) using sequences of 16S rDNA and part of the phycocyanin operon reveal multiple evolutionary lines and reflect phycobilin content. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **51**, 861-871 (2001).
- Salonen Kalevi, J.S. Sources of energy for secondary production in lake Tanganyika : objectives, approaches and initial experiences. *Research for the management of the fisheries on Lake Tanganyika (GCP/RAF/271/FIN-TD/26 (En))* (1994).
- Sarmiento Hugo, M.I., Jean-Pierre Descy Phytoplankton ecology of Lake Kivu (eastern Africa). *Journal of plankton research* **28**, 815-829 (2006).

- Sarvala Jouko, K.S., Marko Järvinen, Eero Aro, Timo Huttula, Pekka Kotilainen, Heini Kurki, Victor Langenberg, Piero Mannini, Anu Peltonen, Pierre-Denis Plisnier, Ilppo Vuorinen, Hannu Mölsä, Ossi V. Lindqvist Trophic structure of Lake Tanganyika : carbon flows in the pelagic food web. *Hydrobiologia* **407**, 149–173 (1999).
- Stenuite, S. Etude du phytoplancton du lac Tanganyika : production particulaire et dissoute. Mémoire de licence en sciences biologiques, Namur. (2003).
- Stenuite S., F.U., Hugo Sarmiento, Samuel Pirlot, Anne-Laure Tarbe, Josep M. Gasol, Jean-Pierre Descy Picoplankton of Lake Tanganyika : seasonality, spatial distribution and trophic fate. (2007).
- Stockner, J.G. Phototrophic picoplankton : freshwater ecosystems. *Limnol. Oceanogr.* **33(4, part 2)**, 765-775 (1988).
- Storch Thomas A., G.W.S. Phytoplankton extracellular release and its relation to the seasonal cycle of dissolved organic carbon in a eutrophic lake. *Limnology and Oceanography* **23(1)**, 112-119 (1978).
- Talling J. F., I.B.T. The Chemical Composition of African Lake Waters. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* **50**, 421-463 (1965).
- Talling, J.F. The phytoplankton of Lake Victoria (East Africa). *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* **25**, 229-256 (1987).
- Taton, A., S. Grubisic, E. Brambilla, R. De Wit, A. Wilmotte Cyanobacterial Diversity in Natural and Artificial Microbial Mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica) : a Morphological and Molecular Approach. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 5157-5169 (2003).
- Tranvik, L.J. Availability of Dissolved Organic Carbon for Planktonic Bacteria in Oligotrophic Lakes of Differing Humic Content. *Microbial Ecology* **16**, 311-322 (1988).
- Uysal, Z. Vertical distribution of marine cyanobacteria *Synechococcus* spp. in the Black, Marmara, Aegean, and eastern Mediterranean seas. *Deep-Sea Research II* **53**, 1976-1987 (2006).
- Van de Peer Y., D.W.R. TREECON for Windows : a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. *Comput. Appl. Biosci.* **10**, 569-570 (1994).
- Vanucci S., V.B. Presence or absence of picophytoplankton in the western Ross Sea during spring 1994 : a matter of size definition. *Polar Biol* **20**, 9-13 (1998).
- Vaulot Daniel, F.P., Jacques Neveux, R. Fauzi, C. Mantoura, Carole A. Llewellyn Winter presence of prochlorophytes in surface waters of the northwestern Mediterranean Sea. *Limnol. Oceanogr.* **35(5)**, 1156-1164 (1990).

Veldhuis Marcel J. W., K.R.T., Peter Croot, Bas van der Wagt Picophytoplankton ; a comparative study of their biochemical composition and photosynthetic properties. *Journal of Sea Research* **53**, 7-24 (2005).

Vörös Lajos, C.C., Katalin V.-Balogh, Roberto Bertoni Freshwater picocyanobacteria along a trophic gradient and light quality range. *Hydrobiologia* **369/370**, 117-125 (1998).

Weisse, T. The microbial loop in the Red Sea : dynamics of pelagic bacteria and heterotrophic nanoflagellates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **55**, 241-250 (1989).

Wetzel, R.G. Limnology. (W. B. Saunders Company, 1983).

Zlotnik I., Z.D. The effect of light and temperature on DOC excretion by phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* **34(5)**, 831-839 (1989).