



## THESIS / THÈSE

### MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

#### **Caractérisation de la composition pigmentaire du phytoplancton de la Meuse: possibilité d'utilisation des pigments comme biomarqueurs**

Polet, Jacqueline

*Award date:*  
1992

*Awarding institution:*  
Universite de Namur

[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.

**Caractérisation de la composition  
pigmentaire du phytoplancton de la  
Meuse : possibilité d'utilisation des  
pigments comme biomarqueurs.**

**POLET Jacqueline  
1992**

**Caractérisation de la composition pigmentaire du  
phytoplancton de la Meuse : possibilité d'utilisation  
des pigments comme biomarqueurs.**

POLET Jacqueline

Résumé

Le but de ce mémoire était de montrer que l'analyse en chromatographie liquide haute performance (HPLC) d'échantillons d'eau de Meuse permet de suivre la dynamique du phytoplancton. Nous avons comparé les résultats obtenus par cette technique avec la mesure de la biomasse des différentes classes d'algues calculée à partir de la méthode des comptage. Cette comparaison nous a montré que la fucoxanthine peut être utilisée comme biomarqueur quantitatif alors que la chlorophylle b, la luteine et l'alloxanthine servent plutôt de biomarqueurs qualitatifs des principales classes d'algues rencontrées en Meuse. Nous avons également mesuré le taux de grazing d'une espèce de rotifères commune dans les eaux de la Meuse par l'utilisation de cellules algales marquées au C<sup>14</sup>. Cette dernière expérience, combinée à l'analyse en HPLC permettra d'envisager dans un proche avenir, l'étude *in situ* de la sélectivité du grazing.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques (Zoologiques)

Décembre 1992

Promoteur : J.-C. Micha

Co-promoteur : J.-P. Descy

## Remerciements

Au terme de ce mémoire, je tiens à remercier monsieur le Professeur Q.C. Micha qui m'a aimablement accueillie au sein de son laboratoire.

Je tiens également à exprimer mes plus sincères remerciements à Monsieur le Professeur Q.P. Descy pour m'avoir proposé un sujet aussi passionnant. Je le remercie aussi pour son dévouement et pour ses encouragements au moment où j'en avais le plus besoin.

Merci à Monsieur le Professeur Q. Remacle pour m'avoir si gentillemant autorisé l'accès à son laboratoire.

J'adresse toute ma gratitude à Marc Dieu et à Christine Veeschens pour la gentillesse avec laquelle ils ont acceptés de me venir en aide.

Je remercie également Monsieur le Professeur Q.P. Thomé, Yves Marneffe et Célia Joaquim - Justo pour leur précieuse participation aux expériences de grazing.

A ces remerciements j'associe aussi tous les membres du laboratoire d'écologie (en particulier Murielle et tous les autres mémorants), ainsi que les chercheurs du laboratoire de biochimie cellulaire pour leur aimabilité et l'aide apportée tout au long de cette année.

Merci à Gerard et Claudine Belle qui avec leur gentillesse habituelle ont accepté de participer à la dactylographie de ce travail.

Un tout grand merci également à Etienne Deloog pour ses conseils judicieux et une patience à toutes épreuves (surtout face au caractère "Polet"...).

A ces remerciements j'associe également, Suzanne Loret qui a aimablement accepté de relire ce travail.

Mais mes remerciements les plus chers vont à mon petit Robin qui a  
su se motter et comprendre pendant ces trois longues années d'études  
passées ensemble. Je remercie aussi mon papa, pour sa confiance, ses  
encouragements et tous les sacrifices dont il a fait preuve.

Enfin je remercie sincèrement mes parents et beaux parents pour  
être si merveilleusement occupé de ma petite graine d'ortille. Sans leur aide,  
je n'aurais jamais pu finir mes études. De tout coeur merci.

## SOMMAIRE

I. INTRODUCTION.....	1
II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
Chapitre 1. Le phytoplancton des eaux douces.....	3
1.1. Composition taxonomique.....	3
1.2. Composition pigmentaire.....	6
1.3. Rôle des pigments - notion de biomarqueurs.....	6
Chapitre 2. Le plancton de la Meuse.....	10
2.1. L'écosystème mosan.....	10
2.1.1. Qualité de l'eau en Meuse.....	10
2.1.2. Biocénose planctonique de la Meuse.....	12
2.1.3. Evolution saisonnière de l'abondance des organismes planctoniques.....	14
2.2. Impact du grazing au niveaux des différents maillons de la chaîne trophique.....	16
2.3. Méthode d'évaluation du grazing.....	18
Chapitre 3. La chromatographie liquide à haute performance.....	26
3.1. Considérations théoriques.....	26
3.2. Intérêts de l'HPLC en écologie aquatique.....	27
III. MATERIEL ET METHODES.....	32
3.1. Prélèvement des échantillons d'eau.....	32
3.2. Dosage des nutriments.....	33
3.2.1. L'azote.....	33
3.2.1.1. Dosage des nitrates méthode utilisant l'acide chromotropique (West & Ramachandran, 1966).....	33
3.2.1.2. Dosage des nitrites Méthode à l'acide sulfanilique (A.P.H.A., 1965).....	33
3.2.1.3. Dosage de l'ammoniaque (H.M.S.O., 1981).....	35
3.2.2. Le phosphore.....	35
3.2.2.1. Dosage des orthophosphates (Golterman & Clymo, 1969).....	35
3.2.2.2. Dosage du phosphore particulaire.....	36
3.2.3. La silice (Golterman & Clymo, 1969).....	36
3.3. Etude du phytoplancton.....	37

3.3.1. Mesure de la biomasse phytoplanctonique...	37
3.3.2. Mesure des rapports C : N : P.....	38
3.3.3. Examen microscopique du phytoplancton.....	39
3.3.4. Séparation des pigments par l'H.P.L.C.....	40
3.3.4.1. Choix d'une méthode.....	40
3.3.4.2. Calibration.....	40
3.3.4.3. Quantification.....	41
3.3.4.4. Estimation du rendement.....	42
3.3.4.5. Mode opératoire.....	42
3.4. Etude des relations trophiques entre le zoo plancton et le phytoplancton - Expérience de grazing.....	44
3.4.1. Culture d'algues.....	44
3.4.2. Elevage des rotifères.....	46
3.4.3. Mesure du grazing.....	47
3.4.3.1. Marquage des algues.....	47
3.4.3.2. Expérience de grazing.....	47
IV. RESULTATS ET DISCUSSION.....	50
4.1. Analyses physico-chimiques.....	50
4.1.2. Evolution de la température.....	50
4.1.2. Evolution du débit.....	50
4.1.3. Evolution de l'intensité lumineuse.....	51
4.1.4. Evolution des nutriments dissous et particulaires.....	51
4.1.4.1. L'azote minéral.....	51
4.1.4.2. Les orthophosphates (Tabl. 1 en annexe, fig. 4.1.4.2.).....	52
4.1.4.3. La silice (Tabl. 1 en annexe, fig 4.1.4.3.).....	52
4.1.4.4. Carbone, azote et phosphore particulaire.....	54
4.2. Biomasse et composition phytoplanctonique.....	56
4.2.1. Evolution de la biomasse phytoplanctonique.....	56
4.2.2. Evolution de la composition phytoplanctonique.....	58
4.3. Analyse des résultats obtenus en HPLC.....	61
4.4. Analyse des résultats en HPLC pour la Meuse Liègeoise.....	65
4.5. Mesure du taux de grazing du rotifère <i>Brachionus</i> <i>calyciflorus</i> .....	66
V. DISCUSSION GENERALE.....	68
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	71





# INTRODUCTION

## I. INTRODUCTION.

Notre travail vise à étudier les modifications saisonnières de la composition du phytoplancton, particulièrement en relation avec la prédation par le zooplancton c'est à dire le "grazing" où broutage. Ce processus a été identifié comme essentiel dans la dynamique du phytoplancton mais actuellement mal connu. Afin de mener à bien cette étude, nous avons choisi d'utiliser des marqueurs biochimiques ou "biomarqueurs".

Un biomarqueur se définit comme un composant chimique d'un organisme ou d'une catégorie d'organismes, mesurable *in situ* dans l'environnement, cette mesure étant susceptible d'être traduite en terme de biomasse. On connaît déjà la chlorophylle a comme biomarqueur. Il permet d'estimer la biomasse phytoplanctonique totale, puisque la chlorophylle a est spécifique des algues et qu'elle existe dans toutes les classes d'algues.

Pour l'étude des peuplements algaux de la Meuse, nous avons retenu comme biomarqueurs, les pigments chlorophylliens et caroténoïdes facilement identifiables et dosables par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). De plus l'identification et le dosage des formes dégradées de ces pigments, dans le zooplancton phytophage, devrait permettre leur utilisation comme traceurs des flux de matière organique au sein de l'écosystème mosan.

Dans un premier temps, nous avons échantillonné, régulièrement, le phytoplancton de la Meuse afin de déterminer par HPLC la composition phytoplanctonique de ce fleuve. Cette étude *in situ* devrait nous permettre d'établir:

- une relation entre la composition phytoplanctonique et les spectres pigmentaires obtenus;
- une évaluation de l'impact du grazing sur le phytoplancton;
- une évaluation du flux de matière organique passant par la voie trophique phytoplancton - zooplancton, susceptible d'alimenter les niveaux trophiques supérieurs;
- une approche de la sélectivité du grazing réalisé par un zooplancton phytophage dominé par des rotifères.

Sur chaque échantillon d'eau récolté, nous avons procédé également au dosage des nutriments dissous et particulaires, étant donné qu'une carence d'un de ces éléments peut entraîner une diminution du taux de croissance. De même, nous nous sommes attardés sur l'évolution des rapports des concentrations des nutriments particulaires (P et N)/concentrations en C particulaire afin comprendre les fluctuations saisonnières de la biomasse algale.

En second lieu, nous avons réalisé en laboratoire des mesures expérimentales du taux de grazing de l'espèce *Brachionus calyciflorus* dans le but de préciser le rôle du grazing dans les successions phytoplanctoniques rencontrées en Meuse. D'autre part, cette mesure du taux de grazing devrait nous permettre d'évaluer les potentialités des dosages par HPLC dans l'estimation qualitative et quantitative du grazing en milieu fluvial.

La mesure du grazing sera essentiellement basée sur des expériences en laboratoire à partir de souches de rotifères (*Brachionus calyciflorus*) et de souches d'algues vertes (*Dictyosphaerium ehrenbergianum*). Cette étape en laboratoire aura pour but de maîtriser les techniques expérimentales afin d'envisager la manipulation d'échantillons prélevés *in situ* dans la Meuse.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

## II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.

### Chapitre I. Le phytoplancton des eaux douces.

#### **1.1. Composition taxonomique.**

On appelle phytoplancton le plancton végétal et tout ce qui n'est pas animal quoique vivant (bactéries, champignons) qui flotte ainsi dans les eaux.. Généralement on restreint le terme de phytoplancton aux algues qui regroupent de nombreuses classes dont la plupart ont des représentants en eaux continentales.

Ci-après, voici la liste des principaux phyla d'algues planctoniques rencontrés dans les eaux douces (Lee, 1980).

##### 1) Les Cyanophycées (algues bleues).

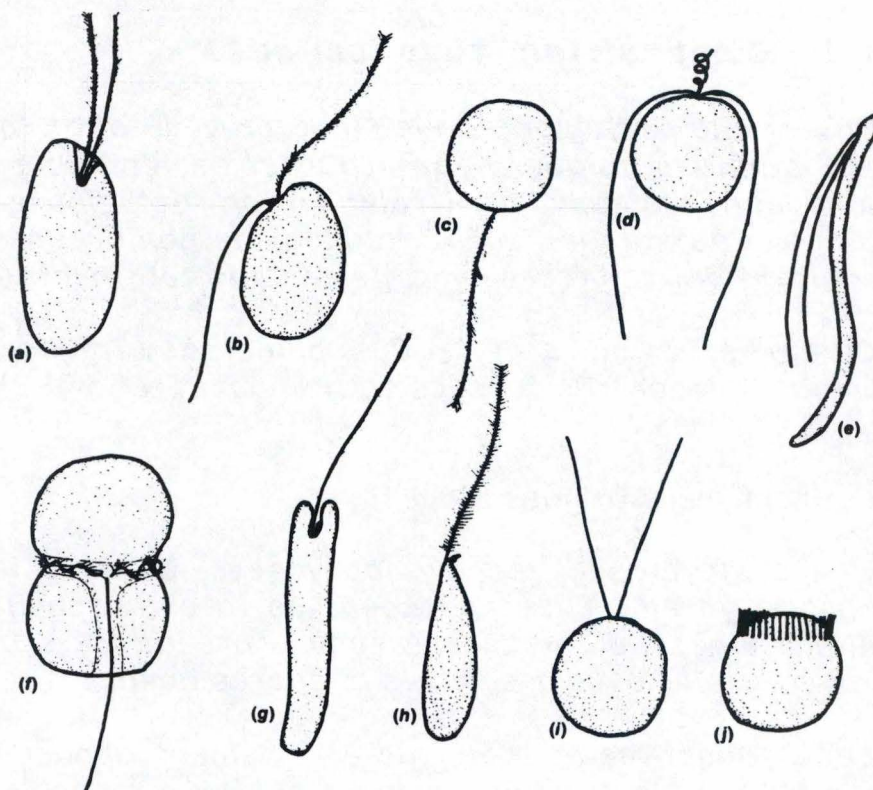
Une seule classe, les Cyanophyceae. Ce sont les seules algues procaryotes. Elles possèdent de la chlorophylle a, des phycobiliprotéines, du glycogène comme produit de stockage, et une paroi cellulaire avec des acides et sucres aminés.

Les Cyanophyceae sont plus étroitement apparentées aux bactéries qu'aux algues eucaryotiques si bien que depuis 1971, on les considère plutôt comme des procaryotes photosynthétiques sous le terme de Cyanobactéries (Stanier et al., 1971).

Les algues bleues sont originaires des eaux douces. Leur distribution est cosmopolite. La plupart des espèces sont aquatiques, sous forme de phytoplancton ou de phytobenthos dans les eaux calmes (lacustres) et les eaux courantes.

##### 2) Les Chromophytes (algues jaunes-brunes).

Les Chromophytes représentent une part importante des algues d'eaux douces. Ces algues présentent une particularité au niveau de leur structure cellulaire. En effet, les Chromophytes ont leurs chloroplastes entourés par une membrane surnuméraire constituée de réticulum endoplasmique granuleux (CER). Ces algues possèdent comme pigments les chlorophylles a, c et de nombreux caroténoïdes dont le carotène et la fucoxanthine (chez les Chrysophyceae et les Bacillariophyceae). Elles se répartissent en dix grandes classes dont six ont des représentants en eaux douces.



The common shape of eucaryotic motile algal cells and the type of flagella. There are a number of modifications of some algal cells in each group, which are not included here. (a) Cryptophyceae; (b) Xanthophyceae, Rhaphidophyceae, Chrysophyceae, Phaeophyceae; (c) Bacillariophyceae; (d) Prymnesiophyceae; (e) Charophyceae; (f) Dinophyceae; (g) Euglenophyceae; (h) Eustigmatophyceae; (i, j) Chlorophyceae.

Fig. 1. (D'après Lee, 1980)

a) Les Dinophyceae.

Les Dinophyceae sont nombreuses dans toutes les eaux naturelles, marines ou continentales. Elles sont caractérisées par des chloroplastes possédant un CER et un noyau "mésocaryotique". Les cellules sont habituellement divisées en épicone et hypocone par une ceinture circulaire.

Elles possèdent de la chlorophylle a et c1, un flagelle transversal hélicoïdal logé dans la ceinture circulaire et qui est recouvert d'une bande striée. L'épicone et l'hypocone sont recouverts par un certain nombre de plaques celluloseuses formant une thèque.

b) Les Cryptophyceae.

Les Cryptophyceae sont très voisines des Rhaphidophyceae. Les chloroplastes sont entourés par deux CER, l'amidon est formé dans des grains entre le réticulum endoplasmique et l'enveloppe du chloroplaste.

Les Cryptophyceae possèdent de la chlorophylle a et c, des phycobiliprotéines et deux flagelles hétérocontés. Le périplaste est localisé à l'intérieur de la membrane plasmique.

c) Les Euglenophyceae.

Ce sont des algues flagellées vertes et parfois rampantes qui peuvent vivre à l'obscurité et dans ce cas elles deviennent alors hétérotrophes. Les Euglènes sont surtout abondantes dans les milieux riches en substances organiques. Les chloroplastes sont entourés par un seul CER, le noyau est "mésocaryotique" et le stockage des produits se fait dans des grains de paramylon.

d) Les Chrysophyceae.

Ces algues sont très bien représentées dans les eaux continentales, dans le plancton. Elles peuvent aussi être plus ou moins fixées sur des substrats divers, ou encore attirées par la tension superficielle à l'interface eau-air, où elles constituent un film infraneustonique.

Leurs chloroplastes sont entourés de deux CER, les pigments sont les chlorophylle a, c1 et c2 plus de la fucoxanthine. Le flagelle antérieur est recouvert de microfibrilles (mastigonèmes), le postérieur est en forme de fouet. Le stockage de la chrysolaminarine se fait dans des vésicules spécialisées du cytoplasme.

e) Les Xanthophyceae.

Les Xanthophyceae ont deux flagelles inégaux, elles comprennent de nombreuses formes libres plus ou moins amiboïdes et un certain nombre de formes pluricellulaires voire coenocytiques. Leurs chloroplastes possèdent deux CER et les pigments consistent en de la chlorophylle a et c.

f) Les Bacillariophyceae (diatomées).

Ce sont des algues qui ont des affinités à la fois avec les Xanthophyceae et avec les Chrysophyceae. Elles sont de couleur jaune - brune ( car elles possèdent comme pigments, outre les chlorophylles a, c1 et c2, de nombreux caroténoïdes dont la fucoxanthine), leur paroi bivalve appelée frustule est silicifiée et présente une grande diversité de formes et d'ornementations. Les diatomées sont extrêmement nombreuses dans les milieux aquatiques continentaux. Les diatomées possèdent un produit de réserve constitué de chrysolaminarine stockée dans des vésicules du cytoplasme.

### 3) Les Chlorophytes.

Une classe dominante en eau douce sont les Chlorophyceae. Leur pigmentation est à base de chlorophylle a et b, elle comprend également des caroténoïdes mais en quantité relativement faible. Elles mettent en réserve dans leurs cellules de l'amidon soit au niveau des chloroplastes soit dans leurs leucoplastes.

Les Chlorophycophytes comprennent un grand nombre de représentants en eau douce. Ils font pour la plupart partie de la classe des Chlorophyceae qui groupe des ordres d'organismes unicellulaires, coloniaux ou filamenteux ou encore siphonnés mais qui possèdent tous à un moment de leur vie des flagelles par deux, par quatre ou en grand nombre, tous égaux.

les Zygnématales constituent un ordre d'algues d'eaux courantes qui est unique dans la classe des Chlorophyceae car ils présentent une reproduction sexuée par conjugaison de gamètes non flagellés. Beaucoup de membres des Zygnématales sont capables de mouvements cellulaires par excrétion d'un mucilage. Cet ordre comprend trois familles dont celle des Desmidiacées. Les desmidiées sont des algues qui possèdent deux moitiés distinctes ou semi-cellules séparées par une constriction médiane (le sinus), et jointes par une zone de connection (l'isthmus). La paroi cellulaire comporte de nombreux pores. Les cellules peuvent être solitaires, jointes pour former des colonies filamenteuses, ou unies en une colonie amorphe. Beaucoup de ces algues ont une forme relativement complexe et attrayante. Ce sont des algues qui présentent un polymorphisme important.

Partout dans les eaux continentales, on peut trouver des Chlorophytes, dans les eaux très acides des tourbières (ex : les desmidiées), comme dans les eaux très riches en matières organiques.



	Classes d'algues							
	Cyanophyceae	Dinophyceae	Cryptophyceae	Euglenophyceae	Chrysophyceae	Xanthophyceae	Bacillariophyceae	Chlorophyceae
<b>Pigments caroténoïdes</b>								
α-carotène	-	-	+	-	+	-	-	+
β-carotène	+	+	-	+	+	+	+	+
Echinénone	+	-	-	-	-	-	-	-
Lutéine	-	-	-	-	-	-	-	+
Zéaxanthine	+	-	-	-	-	-	-	+
Néoxanthine	-	-	-	-	-	+	-	+
Vauchériaxanthine	-	-	-	+	-	-	-	-
Violaxanthine	-	-	-	-	-	-	-	+
Hétéroxanthine	-	-	-	-	-	+	-	-
Fucoxanthine	-	(+)	-	-	+	-	+	-
Diatoxanthine	-	-	-	+	+	+	+	-
Diadinoxanthine	-	+	-	+	+	+	+	-
Péridinine	-	+	-	-	-	-	-	-
Alloxanthine	-	-	+	-	-	-	-	-
Myxoxanthophylle	+	-	-	-	-	-	-	-
<b>Pigments chlorophylliens</b>								
Chlorophylle a	+	+	+	+	+	+	+	+
Chlorophylle b	-	-	-	+	-	-	-	+
Chlorophylle c1	-	+	-	-	+	-	+	-
Chlorophylle c2	-	-	+	-	+	-	+	-

Tab. 1 Répartition des pigments caroténoïdes et chlorophylliens dans les différentes classes d'algues.

(D'après Kirk et Tilney-Bassett, 1978)

## **1.2. Composition pigmentaire.**

Le tableau 1 présente la distribution des pigments caroténoïdes et chlorophylliens dans les différentes classes d'algues.

## **1.3. Rôle des pigments - notion de biomarqueurs.**

La photosynthèse utilisant la lumière visible, il est normal que toutes les cellules phototrophes contiennent des pigments. Le pigment principal (chlorophylle a) est le seul capable de faire la transformation énergétique, convertir l'énergie radiante en énergie chimique. Les pigments accessoires (Chlorophylles b et c, la fucoxanthine) interviennent cependant aussi dans la photosynthèse.

En raison du fait que les différentes classes de phytoplancton possèdent différents pigments chlorophylliens et caroténoïdes, les pigments peuvent être utilisés comme "biomarqueurs" pour les processus impliquant des groupes d'algues variables. Il faut remarquer que quelques pigments (ex : prasinoxanthine et péridinine) sont spécifiques d'une seule classe d'algues, alors que d'autres (fucoxanthine, chlorophylle a et c) sont largement distribués, faisant d'eux des marqueurs taxonomiques moins spécifiques. De plus les pigments photoprotecteurs tels que la diadinoxanthine, qui peut se transformer réversiblement par dé-époxydation en diatoxanthine, doivent être moins considérés comme indicateurs de biomasse que les pigments impliqués dans la photosynthèse ("light - harvesting pigments") comme la fucoxanthine (Storm et Welschmeyer, 1991).

L'utilisation de pigments "biomarqueurs" a une longue histoire et elle apparaît actuellement comme une technique de séparation performante. Il convient donc de retracer brièvement l'évolution du concept de biomarqueur en écologie planctonique. Les premières études effectuées sur les organismes planctoniques ont été menées en milieu marin. A cette époque on pensait qu'il suffisait de définir les caractéristiques du milieu et de quantifier les biomasses en présence pour concevoir un modèle écologique prédisant les flux de matière et d'énergie entre les différents maillons de la chaîne trophique.

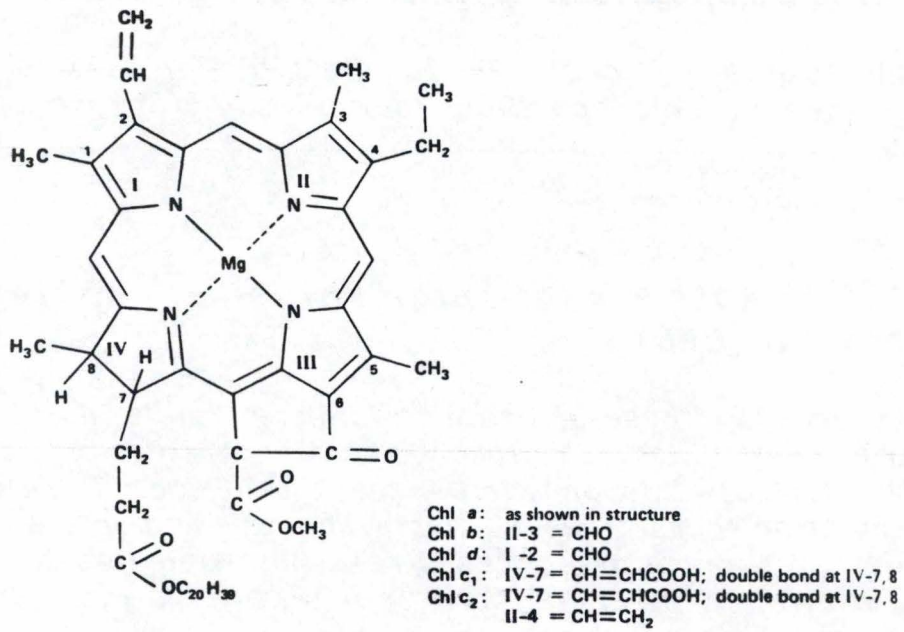


Fig. 2. a) Structure des chlorophylles (D'après Meeks, 1974)

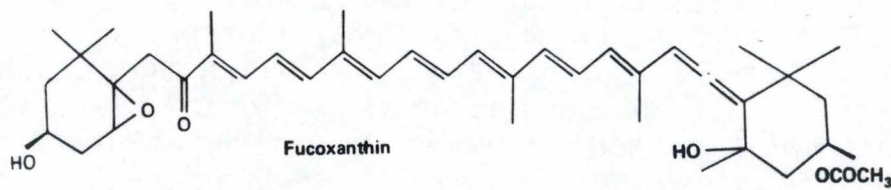


Fig. 2. b) Structure de la fucoxanthine (D'après Lee, 1980)

Ensuite, l'écologie moderne est née. L'approche ne fut plus purement descriptive mais avant tout physiologique. On a pu ainsi mesurer la production primaire, la consommation de nutriments par le phytoplancton, la prédation par le zooplancton et tenter de quantifier les transferts de matière au sein de l'écosystème.

Au cours du temps, on en est venu à prendre en considération la flexibilité fonctionnelle des organismes, cette flexibilité constituant un frein à une modélisation intensive des processus biologiques (Amblard, 1991). C'est pourquoi de nouvelles approches basées sur des méthodes analytiques ont été développées. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, la chromatographie liquide en haute pression et la chromatographie sur couche mince couplée à la détection par ionisation de flamme sont trois techniques à la base du développement de l'utilisation des marqueurs organiques naturels. En effet, les études antérieures dans le domaine de l'écologie planctonique ont révélé que l'utilisation quasi-généralisée de substrats radioactifs conduisait à des conclusions qui avec le temps se révélaient être hâtives. C'est pourquoi, la possibilité de tracer le devenir de la production primaire dans l'écosystème sans avoir recours à l'adjonction de substances exogènes paraît prometteuse.

Les premières approches d'estimation de biomasses de différents maillons de la chaîne trophique aquatique ont utilisé comme biomarqueurs les lipides.

Le niveau trophique étudié fut celui des microorganismes hétérotrophes.

Les lipides se sont révélés des biomarqueurs intéressants. En effet, ils sont des constituants cellulaires majeurs, participant à la mise en réserve de l'énergie et également à la constitution des membranes; de plus, en raison de leur spécificité et de leur relative stabilité chimique, ils peuvent être identifiés et suivis lors des études de transfert. D'autre part, les lipides, et particulièrement les acides gras, peuvent facilement être extraits, séparés et dosés par des outils méthodologiques puissants. Cependant de très nombreux travaux préalables menés dans ce domaine à partir de monocultures (bactéries, champignons, algues et protozoaires), ont souligné qu'il n'existe que très peu d'acides gras présents chez un seul type d'organismes. En revanche, c'est la combinaison de plusieurs acides gras qui doit être considérée comme marqueur.

S'il est indéniable que les acides gras représentent un intérêt comme marqueurs taxonomiques dans les études de la biomasse bactérienne, leur intérêt est moins évident pour l'étude des biomasses algales. Cependant les acides gras peuvent apporter des informations permettant l'appréciation de l'état physiologique des populations phytoplanctoniques (Bourdier, 1987). Les

pigments photosynthétiques forment également un groupe de molécules chimiques susceptibles de répondre à la définition de biomarqueurs.

Les techniques de séparation par Chromatographie Liquide à Haute Pression (H.P.L.C.) devenant, avec le temps, de plus en plus performantes, des travaux ont été menés dans le but de dégager la validité des associations pigmentaires comme traceurs des flux de matière au sein des écosystèmes. Les acides gras et les pigments sont certainement les molécules les plus souvent mentionnées comme biomarqueurs mais d'autres substances (stéroïdes et hydrocarbures) pourraient répondre aux principales caractéristiques de marqueur organique. D'autre part le rôle chimiotaxonomique de certaines molécules, dont les pigments, est souvent utilisé pour préciser l'appartenance d'un organisme à un groupe taxonomique précis (Foss et al., 1984).

### Biomarqueurs et relations trophiques

La mesure du taux d'ingestion du zooplancton a, le plus souvent, été réalisée par la technique de Haney (Haney, 1971). Cette approche a cependant montré ses limites. Aussi un deuxième type d'approche a été mis au point par Mackas et Bohrer (1976). Cette approche consiste à déterminer directement, sur le zooplancton, la fluorescence chlorophyllienne du tractus digestif des animaux. Mais ce type de démarche présente aussi deux problèmes essentiels : il est nécessaire de connaître le temps de transit intestinal et la variabilité qui lui est associée pour pouvoir quantifier l'ingestion. C'est pourquoi on a amélioré la technique grâce à la séparation des pigments photosynthétiques par H.P.L.C. L'H.P.L.C. permet non seulement une sensibilité accrue lors du dosage de la chlorophylle a par rapport à la fluorométrie, mais aussi l'identification et le dosage de l'ensemble des chlorophylles et de leurs produits de dégradation. Mais le plus intéressant dans l'H.P.L.C., c'est que l'identification des caroténoïdes permet d'envisager le traçage de la matière organique sous un jour nouveau. En effet, en séparant les pigments par H.P.L.C., les associations pigmentaires à signification chimiotaxonomique sont révélées et peuvent servir à l'étude de la sélectivité nutritionnelle opérée par les organismes brouteurs.

Quiblier et al. (1991) ont mis en évidence un important degré de conservation des pigments, suite à la comparaison des profils pigmentaires de cultures de *Melosira italica*, *Chlorella vulgaris* et *Microcystis aeruginosa* avec ceux issus de l'extraction des

pigments de *Daphnia magna* (cladocère) nourrie de ces différentes espèces. La nutrition de daphnies par des mélanges de ces algues et celle de zooplancton issu du milieu naturel par des assemblages phytoplanctoniques de composition connue ont montré l'intérêt de cette méthode dans les études qualitatives du régime alimentaire du zooplancton. Le problème majeur dans ce domaine résulte de la rareté des données disponibles concernant le degré de conservation des associations pigmentaires au cours de leur transfert dans la chaîne trophique.

En conclusion, dans le domaine des études de transfert de matière au sein des écosystèmes, on peut considérer que les associations pigmentaires et les acides gras se révèlent être de bons marqueurs. Cependant, les découvertes résultant de l'utilisation de ces molécules sont encore limitées par la connaissance insuffisante du métabolisme des organismes planctoniques.

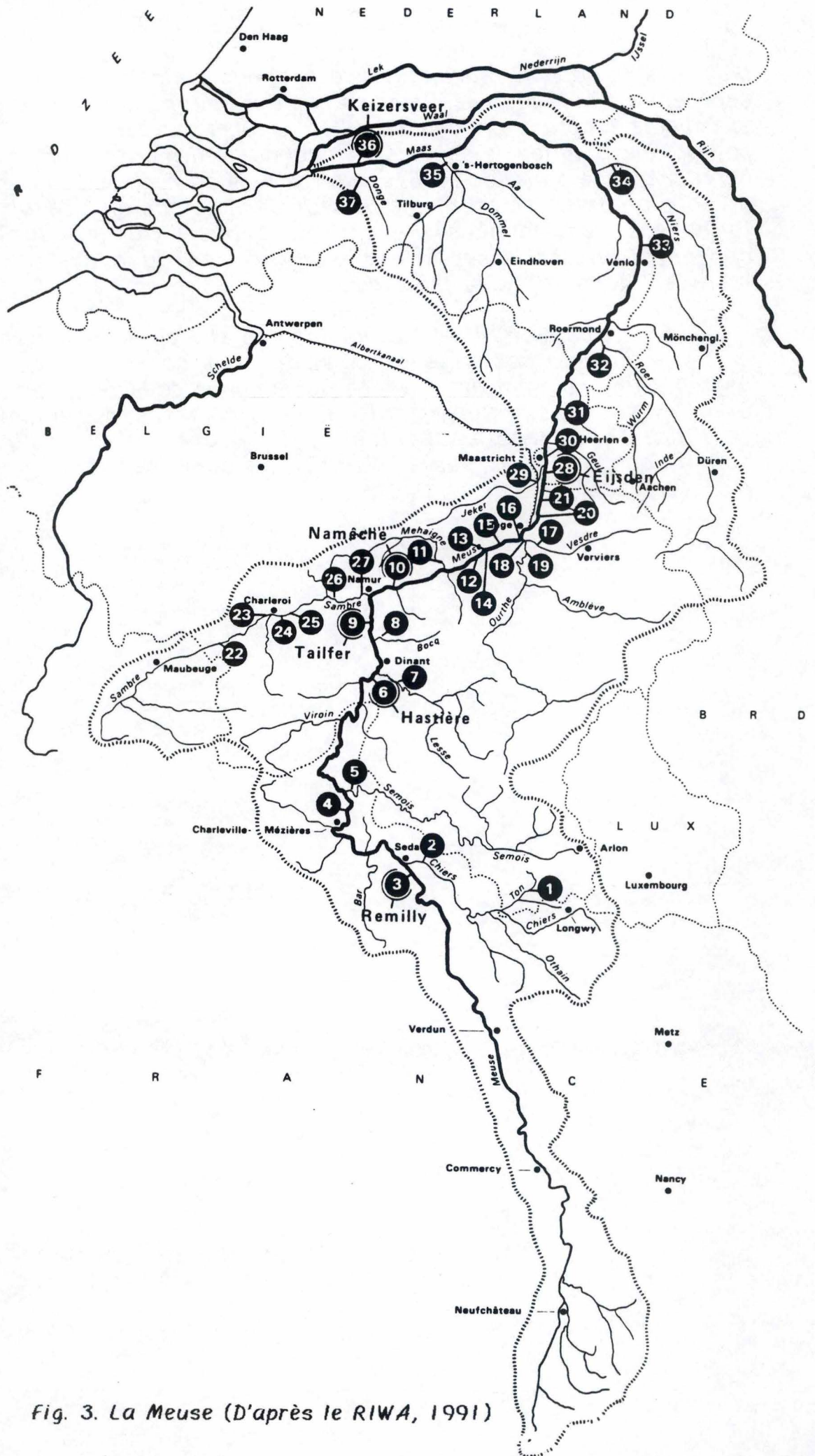


Fig. 3. La Meuse (D'après le RIWA, 1991)

## Chapitre 2. Le plancton de la Meuse.

### **2.1. L'écosystème mosan.**

La Meuse est un fleuve long de 950 km qui prend sa source au pied du plateau de Langres, à 456 m d'altitude; elle s'écoule vers Verdun, s'encaisse ensuite dans le plateau ardennais, traversant les villes de Sedan et de Charleville, puis s'élargit en Belgique où elle reçoit successivement les eaux de l'Hermeton, de la Lesse, du Bocq, de la Molignée, et à Namur de la Sambre, son affluent le plus important. En aval de Namur, le fleuve reçoit encore les eaux du Samson, de la Méhaigne, du Houyoux, de l'Ourthe et du Geer.

Après avoir sillonné les plaines de Hollande transformées en polders et formé un delta avec le Rhin, le fleuve se jette dans la mer du Nord.

La Meuse est reliée par des canaux à l'Oise, à la Marne, à la Moselle, au Rhin et à l'Escaut; elle est navigable de son embouchure à Sedan. Le bassin de la Meuse a une superficie de 36011 Km<sup>2</sup>, il est étiré suivant la direction méridienne et ses extrémités nord et sud sont à moins de 500 Km l'une de l'autre.

#### 2.1.1. Qualité de l'eau en Meuse.

Dans leur ensemble, les communautés végétales et animales de la Meuse, déjà perturbées à la frontière française, subissent une nouvelle détérioration en aval de Namur et de la confluence avec la Sambre. Cette détérioration s'accroît encore en région liégeoise. Elle résulte d'un accroissement global de la pollution au niveau du sillon Sambre et Meuse et d'un aménagement, du secteur entre Namur et la frontière néerlandaise, très peu compatible avec le maintien d'une flore et d'une faune diversifiées.

Il faut noter que si plusieurs formes de pollutions, notamment chimiques, ont tendance à diminuer depuis une dizaine d'années, les pertes d'habitats dues aux aménagements sont encore nombreuses et touchent surtout le secteur, jusqu'à présent le mieux préservé de la Meuse, en amont de Namur (État de l'environnement wallon, 1991).

D'une façon générale, si l'on examine l'évolution de la concentration moyenne annuelle en chlorophylle *a* depuis une dizaine d'années, on peut remarquer une croissance de ce paramètre traduisant une biomasse phytoplanctonique annuelle en



Mesures générales									
Température 13,5 C°		Débit 150 m3/s		Conc.en Oxygène 10,6 mg/l		Saturation en oxygène 98%		Mat.en susp. 26 mg	
Tritium 26 Bq/l		Odeur 10		pH 8,07		Rad.B-résiduelle <0,2 Bq/l			
Substances inorganiques									
Cond.électrique (à 20°C) 37 mS/m				Bicarbonates 181 mmol/l		Chlorures 22 mmol/l		Sulfates 35 mmol/l	
Sodium 10 mmol/l		Potassium 3,7 mmol/l		Calcium 59 mmol/l		Magnésium 8,88 mmol/l		Dureté totale 1,82 mmol/l	
Autres paramètres inorganiques									
Manganèse 0,05 µg/l		Fer 0,65µg/l		Baryum 20µg/l		Béryllium <0,01µg/l		Bore 0,05µg/l	
Nickel 2µg/l		Vanadium 4µg/l		Zinc 39µg/l		Fluorures 0,12µg/l		Cadmium 0,25µg/l	
						Chrome 3µg/l		Cuivre 3µg/l	
								Mercure 0,20µg/l	
								Plomb 2µg/l	
								Cyanures 19µg/l	
Micropolluants organiques spécifiques									
Chlorophénols <0,02 - <22,00 µg/l									
Hydrocarbures polycycl.aromatiques (HPA) 0,01µg/l sauf pour le fluoranthène (0,02µg/l) et la somme des 6HPA de Borneff (0,05µg/l)									
Paramètres organiques intégrés									
Carbone organique total dissous (COD) 2,7 mg/l			Demande chimique en oxygène (DCO) 14 mg/l			Coloration 16 Pt		Hydrocarbures 0,02 µg/L	
Composés org. halogénés adsorb. (AOX) 27 µg/l			Inhibiteurs de la cholinestérase 0,10 µg/l						
Substances eutrophisantes									
Ammonium 0,06 mg/l		Azote 1,5 mg/l		Nitrites 0,020 mg/l		Nitrates (1) Orthophosphates (2) 2,58 mg/l (1) 0,087mg/l(2)		Phosphore total 0,11 mg/l	
								silicates 1,80 mg/l	
Indice saprophyte									
Indice sabrobique (Dresseher & V.D.Mark) 0,60 s.d.				Ciliatia (1) Euglenophyceae (2) 3 taxa (1) 1 taxon (2)		Chlorococcales 9 taxa		Bacillariophyceae Conjugales 7 taxa 1 taxon	
Péridiniales 1 taxon								Chrysophyceae 1 taxon	
Biomasse d'algues									
Chlorophylle a 34µg/l		phéophytine 21µg/l							
Paramètres bactériologiques									
bactéries coliformes à 37°C 37707/100 ml				Eschérichia coli 947/100 ml					

Tab.2. Données de qualité des eaux de la Meuse à Tailfer en 1990 :  
moyennes mensuelles (D'après le RIWA,1991)

augmentation. En Meuse liégeoise, les principales modifications récentes des communautés aquatiques sont liées à la diminution des déversements toxiques en rivière, ce qui permet la croissance des algues planctoniques. L'enrichissement organique et l'eutrophisation du fleuve ont également modifié les communautés de l'écosystème mosan tant au niveau de la biomasse qu'au niveau taxonomique (Borlée, 1988). De plus, depuis le début des années 80, de véritables proliférations d'algues planctoniques se manifestent brutalement en amont de la frontière française. Ces "blooms" modifient les bilans en oxygène par l'augmentation des activités photosynthétiques et respiratoires. C'est un phénomène dont les répercussions se manifestent sur tout le cours de la Meuse. En effet, la biomasse entraînée par les eaux augmente considérablement l'apport de matières organiques en aval, ce qui avec les rejets domestiques et industriels, contribue à y promouvoir la prolifération des détrivores résistants (Oligochètes dont les Tubificidés, Hirudinées) et à y causer une augmentation de l'activité des décomposeurs microbiens. Le groupe de Microbiologie des Milieux Aquatiques de l'Université Libre de Bruxelles a effectivement observé une prolifération microbienne en Meuse belge durant l'année 1991 (Etat de l'environnement wallon, 1992). De plus, lors de son étude sur la qualité des eaux de surface dans le bassin de la Meuse, le RIWA (Association des Services d'Eau du Rhin et de la Meuse, été 91) a révélé pour la Meuse liégeoise l'existence d'une pollution microbienne. Les plus grands nombres de bactéries thermotolérantes sont enregistrés près de Hermalle (92000 UFC/100ml) et près de Seraing (6200 UFC/100ml). Le nombre le plus important de streptocoques fécaux est mesuré près de Fragnée (1540 UFC/100ml), suivi de Hermalle (920 UFC/100ml). Une hausse de pollution fécale près de Seraing, Fragnée et Hermalle peut être mise en rapport avec les décharges des eaux usées de la ville de Liège.

Il n'est pas exclu qu'à l'avenir la dégradation de la qualité chimique des eaux engendrée par cette eutrophisation ne provoque des mortalités massives de poissons. Toutes ces modifications de l'écosystème Meuse suite aux pressions humaines et surtout à l'eutrophisation font prendre conscience qu'il est temps d'accorder une attention particulière à ce milieu fluvial perturbé.

Le RIWA a effectué durant l'année 1990 une campagne d'échantillonnages qui a servi à établir un profil de qualité de la Meuse et de la Sambre.

Les résultats essentiels des mesures effectuées dans la Meuse à la station de Tailfer en 1990 (la station la plus proche de la Plante, où se feront nos prélèvements) sont repris au tableau 2.

### 2.1.2. Biocénose planctonique de la Meuse.

Le phytoplancton de la Meuse, et des grandes rivières en général, est similaire au phytoplancton rencontré dans les lacs eutrophes (ou mésotrophes) durant la période du brassage des eaux au printemps et en automne. En effet, les communautés phytoplanctoniques rencontrées dans la Meuse, sont typiques d'une colonne d'eau mélangée et approvisionnée en nutriments (apports importants des rejets et du bassin versant, ainsi que des sédiments).

La forte teneur en matières en suspension dans la Meuse, réduit la pénétration de la lumière, ce qui entraîne la dominance des espèces capables de vivre dans un milieu perturbé et limité en lumière (Reynolds 1984 a et b, 1988). De plus, le débit de la Meuse implique que phytoplancton est caractérisé par des espèces à taux de croissance élevé.

Les algues dominantes en Meuse sont des diatomées centriques (*Stephanodiscus*, *Cyclotella*, *Cyclostephanos*, etc...) durant le printemps et l'automne, tandis que les algues vertes (les Chlorococcales principalement) et les Cryptophycées se développent mieux pendant l'été (Descy, 1987). Toutefois, en période de très faible débit, on peut assister à une croissance de Cyanophyceae typiques de milieux plus ou moins stratifiés (*Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria agardhii*, ... Descy com. pers.).

La fraction animale du plancton des eaux douces est constituée de trois groupes principaux : les rotifères, les cladocères et les copépodes. Des larves de mollusques, des méduses et des vers plats viennent parfois s'ajouter à ces trois composantes. D'autre part, les protozoaires sont omniprésents et constituent le microzooplancton qui se nourrit de bactéries et de petites algues

Les invertébrés zooplanctoniques ont une taille comprise entre quelques centièmes de millimètres et quelques millimètres. Leurs capacités de déplacement, liée à la présence de cils vibratils, d'antennes ou de pattes natatoires, ne leur permettent pas de s'opposer aux mouvements des masses d'eaux.

Les données sur le zooplancton de la Meuse concernent, principalement, le secteur liégeois. En effet, beaucoup d'études ont été effectuées en Meuse liégeoise afin d'évaluer l'impact de l'implantation de la centrale nucléaire de Tihange sur l'écosystème mosan.

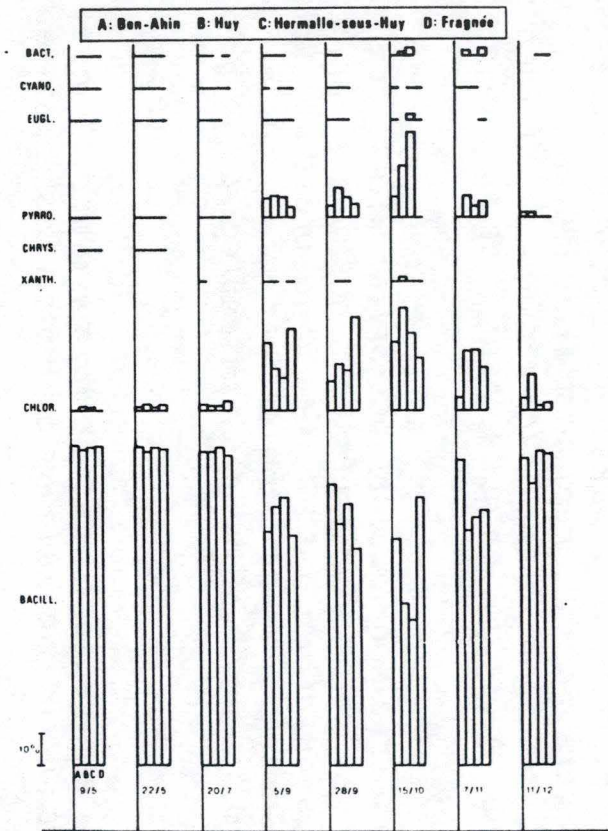


Fig. 4. variations au cours de l'année 1979, des différents groupes taxonomiques constitutifs du phytoplancton aux quatre stations de prélèvements.

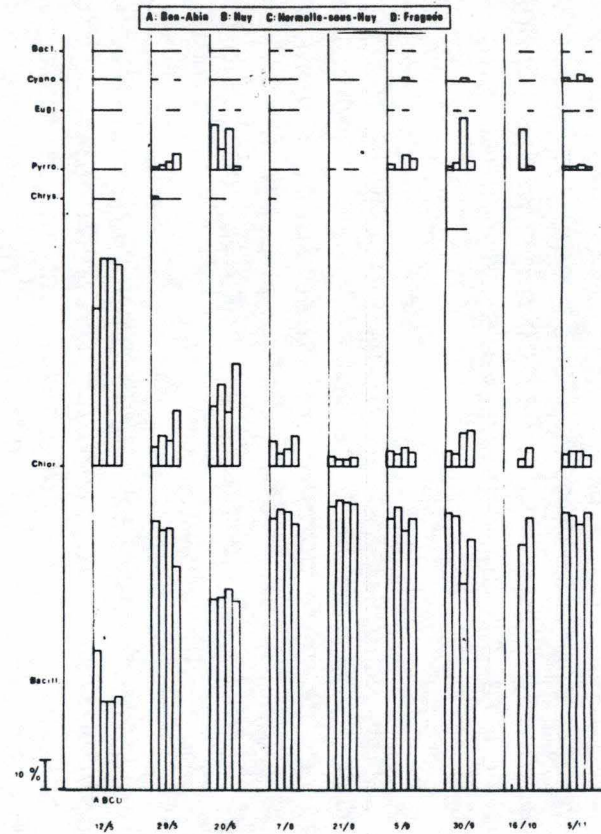


Fig. 5. Variations, au cours de l'année 1980, des différents groupes taxonomiques constitutifs du phytoplancton aux 4 stations de prélèvements.

En vue d'étudier l'impact de l'implantation de cette centrale, une première étude qualitative et quantitative du zooplancton de la Meuse a été réalisée en 1979 et 1980 aux quatre stations suivantes: Fragnée, Namur, Tihange et Liège (voir fig : 4. et 5. ). Des résultats, il est ressorti que le zooplancton se développait aussi bien en amont qu'en aval de la centrale, du moins à partir de mai, tantôt jusqu'à novembre ou tantôt seulement jusqu'en août. Le zooplancton, à cette époque, était principalement composé de rotifères et d'une plus petite partie de crustacés (copépodes adultes, nauplies et en faible quantité des cladocères). Parmi les rotifères, l'espèce *Brachionus calyciflorus* s'est développée considérablement au printemps et en été, surtout en aval de la centrale (Hermalle).

Une deuxième étude des consommateurs primaires et secondaires (toujours dans le même cadre) a été effectuée de mai à octobre en 1984. Cette étude a révélé qu'aux sept stations de prélèvements (Huy(1), Aampsin(2), Ivoz-Ramet(3), Fragnée(4), Monsin(5), Hermalle(6), Lixhe(7)), le zooplancton fluvial était constitué de protozoaires (surtout ciliés), de rotifères, de crustacés et de larves de mollusques. L'importance des différents groupes systématiques aux différentes stations est reprise au tableau 3. Par leurs nombres autant que par leurs tailles importantes, quatre espèces de rotifères constituaient la fraction dominante du zooplancton. Il s'agissait de *Brachionus urceolaris*, *B. angularis*, *B. calyciflorus* et *Keratella cochlearis* (Jeuniaux et al., 1984).

Dans l'étude de la dynamique du zooplancton de la Basse Meuse, Marneffe et Thomé (1991) ont étudié la succession dans le temps des espèces zooplanctoniques dominantes dans la Meuse. Ils ont constaté que les Rotifères (*Brachionus calyciflorus* et *B. angularis*) sont des espèces printanières et automnales alors que les espèces de crustacés sont plutôt estivales. Selon ces auteurs, les principales espèces zooplanctoniques de l'écosystème mosan sont indicatrices d'un milieu nettement eutrophisé ou règne une forte pollution organique. Cela se marque par une augmentation des densités et des biomasses en aval de la ville de Liège, là où les apports de matières organiques sont importants et entraînent un développement d'espèces zooplanctoniques adaptées à ces conditions de vie.

Une étude de plus sur la composition taxonomique du zooplancton mosan, y compris le secteur en amont de Tihange, a été effectuée par Sanderson (été 1991). Cette étude révèle que pour l'ensemble de la Meuse, la distribution de l'abondance des espèces suit une distribution binomiale négative; généralement une espèce est dominante tandis que les autres espèces

TOTAUX	24.04	0.05	23.05	5.06	19.06	3.07	17.07	4.09	19.09	29.10
<b>1. Ciliés.</b>										
Station 1	163.800	240.000	37.700	208.650	73.331	42.198	321.280	68.665	21.856	120.916
2	310.300	243.000	70.000	132.913	202.582	27.749	112.733	21.450	1.708	112.578
3	560.250	385.363	141.744	188.529	53.863	26.040	109.675	58.072	3.583	68.250
4	433.600	137.500	58.325	175.906	55.581	27.200	124.644	64.447	11.375	77.076
5	604.500	129.822	145.529	117.332	63.807	35.447	97.336	95.439	-7.790	68.810
6	713.800	194.750	147.452	119.000	30.765	31.450	122.976	98.000	13.750	276.000
7	821.500	164.831	178.500	134.746	72.297	124.430	59.103	85.500	19.250	92.114
<b>2. Rotifères</b>										
Station 1	21.750	311.100	206.950	22.100	109.700	396.050	70.200	429.710	147.528	23.456
2	54.000	176.200	237.350	28.650	124.900	230.400	60.350	150.150	181.048	27.134
3	48.850	195.750	231.800	39.300	141.400	221.550	139.750	150.304	352.958	28.350
4	73.450	174.900	131.950	24.300	26.850	249.550	190.900	170.595	30.873	40.679
5	175.500	146.950	113.350	13.750	107.900	217.550	103.750	141.513	38.958	18.677
6	324.450	376.450	145.900	13.750	338.450	230.800	196.150	206.500	20.000	17.250
7	178.850	591.450	185.900	16.050	408.800	232.950	104.200	247.500	38.500	16.324
<b>3. Crustacés</b>										
Station 1					916	4.333	14.064	66.450	9.542	9.346
2		20.250				1.541	13.664	33.000	27.328	13.587
3						3.125	58.621	116.144	19.708	11.950
4					1.208	6.400	49.491	144.058	11.075	
5						13.008	46.552	164.550	15.583	2.949
6					1.833	3.700	50.400	175.000	18.750	1.150
7						15.583		211.500	17.500	
<b>4. Dreissena</b>										
Station 1		6.000			21.083	14.083				
2		6.750			16.683	23.125		17.720		
3		17.000	1.916		10.100	16.666		8.250	5.375	
4			2.466		2.416	42.400				
5					6.175	22.300				
6					17.416					
7			3.100		7.400	1.558			1.750	

Tab. 3. Importance (1) des différents groupes systématiques en fonction des dates de prélèvement et des localisations (D'après Jeuniaux et al, 1984)

(1) L'importance représente la densité des animaux en nombre d'individus/m<sup>3</sup>

Dreissena = larve du mollusque bivalve : Dreissena polymorpha

présentent un effectif très bas . A chaque station étudiée, le rotifère *Keratella cochlearis* était l'espèce dominante. Quatre autres espèces (*Brachionus calyciflorus*, *Brachionus angularis*, *Polyartha remata* et *Cephalodiella gibba*) furent aussi trouvées à chaque site (La Plante , Port de Jambes , Tailfer , Ampsin et Fragnée). Cependant, la Basse Meuse a montré de plus grandes différences dans la composition taxonomique des espèces que la Haute Meuse, indiquant le rôle possible des polluants dans ces changements.

D'autre part, Sanderson (1991) avance l'hypothèse que l'absence de grands cladocères est le signe que la compétition pour l'exploitation de la nourriture peut être de signification limitée, spécialement dans un environnement où la nourriture est abondante. Dès lors, l'abondance de petites espèces zooplanctoniques (dont les rotifères) rencontrée cette année-là, peut être expliquée par la durée de vie de ces espèces ainsi que par le temps de séjour des masses d'eaux. Les paramètres de l'environnement semblent avoir une grande influence sur la composition en espèces aussi bien que les facteurs biotiques.

### 2.1.3. Evolution saisonnière de l'abondance des organismes planctoniques.

Les organismes planctoniques se caractérisent par des fortes capacités de reproduction ainsi que par un taux de mortalité élevé. De ce fait, d'importantes modifications affectent en permanence les communautés. Certaines espèces disparaissent alors que d'autres sont brusquement favorisées. Cette succession des espèces au cours des saisons ne se fait pas au hasard, mais répond à l'évolution des conditions du milieu. De nombreux facteurs interviennent simultanément, et les successions qui en résultent obéissent à un schéma très complexe.

1°) en milieu lentique. (fig.6)

A la fin de l'hiver, la circulation printanière des eaux enrichit l'ensemble de la colonne d'eau en éléments nutritifs et en oxygène. L'augmentation de la luminosité permet une poussée de petites algues (nanoplancton à croissance rapide : *Cryptophyceae*, petites diatomées). Cette explosion printanière assure le développement de petits animaux planctoniques, des rotifères et des petits cladocères (bosmines), progressivement remplacés par de grands cladocères (daphnies) et par des copépodes calanoïdes.

Les organismes herbivores se développent en densité suffisante pour provoquer une chute drastique de la quantité

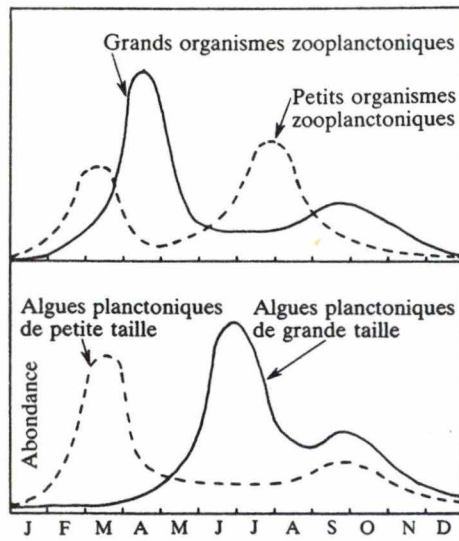


Fig. 6. Evolution saisonnière de l'abondance des organismes planctoniques selon leur taille (D'après Lacroix, 1992).

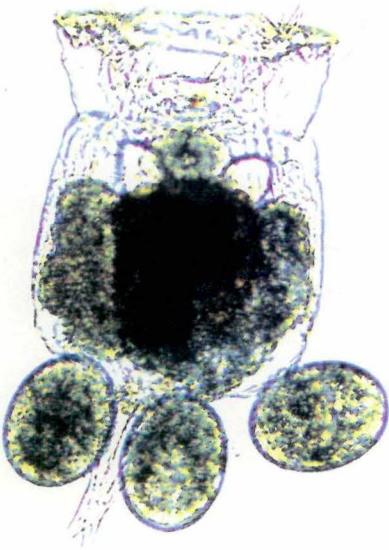


Fig. 7. *Epiphanes brachionus* (ici une femelle porteuse d'oeufs) (D'après Lacroix, 1992).

*Eudiaptomus gracilis*, femelle ovigère (copépode calanoïde). Contrairement aux rotifères et aux cladocères, les copépodes calanoïdes et cyclopoïdes se reproduisent uniquement par voie sexuée.



Fig. 8. (D'après Lacroix, 1992).



des cellules algales. Ayant fortement contribué à l'épuisement de leurs ressources alimentaires et étant également soumises à une forte prédation par les poissons zooplanctonophages, les grandes espèces zooplanctoniques diminuent à leur tour au début de l'été.

De petites espèces (rotifères, bosmines et ceriodaphnies chez les cladocères, petits cyclopoïdes) s'installent. On assiste à un second développement du phytoplancton, et en particulier des algues vertes. De grandes diatomées peuvent également être observées à condition que la concentration en silice soit encore suffisante.

La croissance des algues provoque bientôt un épuisement des éléments minéraux, et en particulier du phosphore. On observe alors l'apparition de cyanobactéries coloniales et de grandes algues à croissance lente, tels les péridiniens. Ces organismes sont peu consommés par les herbivores en raison de leur grande taille. Plus mobiles que les diatomées et capables de migrations verticales, ils sont également moins sensibles à la sédimentation. Enfin, au milieu de l'automne, la diminution des radiations solaires et de la température provoque un ralentissement marqué de la photosynthèse, une diminution de la biomasse algale et également de la densité de zooplancton. Une reproduction sexuée apparaît chez certains cladocères, qui forment des oeufs de durée pour la mauvaise saison.

## 2°) En milieu lotique.

Le phytoplancton des grandes rivières, ou potamoplancton, présente, comme dans les lacs, des variations saisonnières caractéristiques déjà décrites plus haut pour la Meuse. En l'absence de stratification, la sédimentation et la limitation par les nutriments jouent un rôle moindre qu'en milieu lacustre. Dès lors, la dynamique du potamoplancton est surtout contrôlée par des facteurs physiques: lumière, température et débit. on peut ainsi distinguer une phase printanière, caractérisée par un bloom de diatomées (différentes espèces de *Stephanodiscus* en milieu eutrophisé,) suivie par une phase estivale où les Chlorococcales prennent plus d'importance mais où les diatomées sont toujours abondantes (petites et grandes centriques, espèces filamenteuses des genres *Aulacoseira*, *Skeletonema*). Enfin, si l'étiage se prolonge en automne, un second bloom de diatomées centriques apparaît, avant la décroissance progressive ou brutale suivant les conditions hydro-météorologiques.

Cependant, il semble que l'effet du grazing sur la dynamique du potamoplancton ait été négligé par la plupart des auteurs. Le zooplancton fluvial n'a fait lui-même l'objet que de peu d'études, alors que d'importantes populations peuvent se développer et jouer un rôle trophique certain (alimentation des alevins des poissons).

Au niveau du phytoplancton, l'impact du grazing se marque par l'apparition de peuplements dominés par des algues de grande taille, peu consommables par le zooplancton: grandes diatomées centriques, diatomées filamenteuses, Chlorococcales coloniales... D'autre part, les faibles biomasses rencontrées souvent en fin d'été ne peuvent s'expliquer que par le grazing: d'après les modèles mathématiques (Descy et al., 1987), la consommation par le zooplancton interviendrait pour environ 50% dans le taux de disparition des algues planctoniques.

Rem : Le grazing étant communément désigné pour interpréter l'activité de prédation du zooplancton sur le phytoplancton et ce même dans la littérature scientifique française, c'est donc ce terme que nous utiliserons dans ce travail.

## 2.2. Impact du grazing au niveau des différents maillons de la chaîne trophique.

Maemets (1983) a démontré que lorsque la productivité phytoplanctonique totale d'une colonne d'eau augmente, la biomasse zooplanctonique présente une évolution similaire. Tout comme dans un modèle proies-prédateurs, cette interaction entre les producteurs primaires et secondaires est contrôlée par les populations de "proies", c'est à dire de phytoplancton (Hoffmann, 1983).

Aussi, l'abondance de biomasse zooplanctonique sera expliquée par la présence (en quantité suffisante) ou l'absence de classes phytoplanctoniques consommables par le zooplancton présent. Les changements rencontrés dans la composition des espèces zooplanctoniques au cours d'une année résulteront principalement de changement dans la source de nourriture. Les espèces de zooplancton adaptées à un type spécifique de

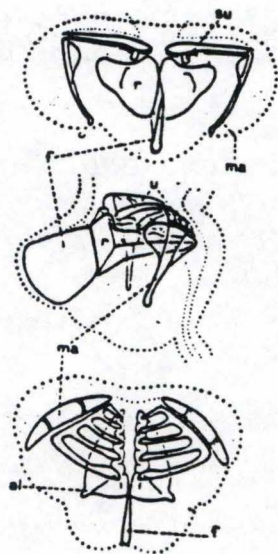


Fig. 9 Schéma général du maxillaire en vue antérieure, latérale gauche et supérieure. al, alula; f, fulcrum; ma, manubrium; r, ramus; su, subuncus; u, uncus; (d'après De BEAUCHAMP, 1965)

nourriture seront dès lors présentes seulement quand cette nourriture est abondante dans leur environnement.

L'échelle de taille de particules disponibles pour un organisme zooplanctonique est principalement déterminée par sa morphologie. Dans le cas des rotifères, la taille des particules ingérées est fonction du type de mastax (voir fig.9), de la structure de l'appareil ciliaire et de la taille de la bouche. De petites adaptations de cet appareil aboutissent à des modifications de régime et au partage des ressources entre espèces. Ceci explique comment plusieurs espèces peuvent coexister, parce que chacune est spécialisée dans l'exploitation d'un type différent de nourriture.

Les proportions relatives d'algues, de détritus et de bactéries en suspension dans l'eau influencent directement le taux de filtration du zooplancton. De plus Edmonson (1965) a observé une relation entre le taux de reproduction du zooplancton et les espèces algales ingérées, suggérant que la valeur nutritive de tous les types d'algues pour le zooplancton n'est pas uniforme.

Porter (1973) et Pourriot (1977) ont montré que l'existence d'une sélection dans le choix des espèces algales consommées confèrent aux espèces zooplanctoniques un avantage sélectif, voire augmente leur fécondité (Kind, 1967). Cette sélection dans l'ingestion de nourriture peut résulter d'une assimilation, ou d'une filtration plus efficace de la nourriture.

On observe une filtration préférentielle dans un milieu aquatique eutrophe, lorsqu'il y a une grande diversité de types de nourriture. Par contre, lorsque les eaux sont pauvres en nutriments, les espèces zooplanctoniques ingèrent tous les types de nourritures pourvu qu'elle soit de taille appropriée. Ceci peut expliquer l'abondance d'espèces planctoniques rencontrées en milieu eutrophe.

Récemment, Mc Queen (1986) a observé que lorsqu'il y a limitation par les nutriments, le zooplancton peut être un facteur important de disparition des algues. En effet, si un grazing sélectif s'opère sur les communautés phytoplanctoniques présentes dans la colonne d'eau, certaines espèces d'algues soumises au grazing voient leur effectifs diminuer (voire s'éteindre), alors que d'autres prospèrent suite à une compétition réduite pour les nutriments.

Porter (1973) a montré expérimentalement que le taux de grazing peut influencer la composition phytoplanctonique. Il a observé que les espèces dont l'effectif diminue suite à la pression de grazing sont généralement de petites algues (les flagellées, le

nanophytoplancton et les petites diatomées); que les espèces non soumises au grazing sont des espèces non agréables au goût; et enfin, que les espèces qui prospèrent en présence de brouteurs sont dominées par les algues vertes protégées par la sécrétion d'une gaine gélatineuse qui les rend non comestibles. De plus ces algues indigestes bénéficient de leur passage dans le tractus digestif des brouteurs, car celui-ci constitue un environnement riche en nutriments. La conclusion de Porter est que le grazing peut affecter significativement la composition phytoplanctonique et contribuer largement à leur succession saisonnière. Le grazing peut également expliquer la succession d'espèces zooplanctoniques observée depuis le printemps jusqu'à l'automne.

Il nous apparaît donc essentiel d'étudier le grazing au niveau de l'écosystème mosan, car c'est un facteur de régulation qui permet d'interpréter et de prédire l'évolution saisonnière des communautés phyto- et zooplanctoniques. D'autres part, le zooplancton étant soumis à la prédation des larves et alevins de poissons, le grazing intervient aussi dans la croissance et le développement des différentes espèces piscicoles rencontrées dans la Meuse. En conclusion, si l'on connaît bien les interactions biotiques entre les différents maillons de la chaîne trophique aquatique, il est dès lors possible d'exploiter celles-ci, notamment dans le but de favoriser l'essor de l'aquaculture.

### **2.3. METHODE D'EVALUATION DU GRAZING**

De nombreuses études antérieures sur les interactions biotiques entre le phytoplancton et le zooplancton ont été menées en milieu lacustre (Champ et Pourriot 1977; Rigler 1965; Sommer 1985; Vanni et Temte 1990; etc...). Les études ont surtout visé à établir les facteurs responsables de l'établissement de la phase des eaux claires observées au début de l'été dans les lacs eutrophes. Les résultats de ces études suggèrent :

- que les communautés de phytoplancton sont caractérisés non pas comme étant limitées par le grazing ou par les nutriments, mais comme étant sujettes à un système d'interactions dans lequel les importances et les forces relatives des facteurs changent en fonction des saisons (Vanni et Temte, 1990; in Rigler, 1970).



*Daphnia obtusa* femelle porteuse d'œufs. Les grands cladocères constituent des organismes filtres très efficaces au sein du zooplancton.

Fig. 10. (D'après Lacroix, 1992).

- d'autre part, que les taux de grazing sont connus comme étant influencés par une multitude de facteurs, tels que l'acclimatation, le stress, la lumière, la température, la concentration en nourriture et la taille, la forme, ainsi que les caractéristiques chimiques et biologiques des particules alimentaires. Dès lors, les mesures du taux de grazing seront plus représentatives de l'écosystème naturel quand elles seront menées *in situ* avec un minimum de manipulation (Gawler et Chapuis, 1987; in Rigler, 1971). Ce sont essentiellement les études sur le régime alimentaire des cladocères qui ont permis de connaître les facteurs modulant le taux de filtration des organismes zooplanctoniques.

L'étude du régime alimentaire des cladocères s'est faite par l'analyse des contenus intestinaux. Ces crustacés présentent une grande diversité de nourriture: détritus, bactéries, levures, algues et protozoaires. L'assimilation dépend de la nature de l'aliment mais aussi de sa densité; de l'âge et du sexe du cladocère (Pechen'finenko, 1971; in Rigler, 1971) et de divers facteurs physico-chimiques du milieu. De plus certaines algues peuvent être assimilées à un taux élevé mais empêcher la reproduction ou même la survie des cladocères par leurs effets toxiques (Arnold, 1971; in Rigler 1971). Les disparités dans le régime alimentaire susceptibles d'expliquer la répartition différente des espèces de cladocères planctoniques, ou la cohabitation de plusieurs espèces dans un milieu, apparaissent extrêmement minimes dans les résultats publiés.

De nombreuses algues de divers groupes constituent une alimentation convenable aux cladocères. Les limitations peuvent être d'ordre physique (dimension, résistance des téguments), chimiques (carence, toxicité), ou comportementales.

Les phénomènes comportementaux dont résulte le choix préférentiel de la taille des particules ingérées sont complexes.

### Variations du taux de filtration des cladocères.

#### \* Variations selon la nature de l'aliment.

Le nombre de cellules ingérées varie considérablement, mais Mac Mahon et Rigler (1965) ont montré que le volume global des cellules ingérées est plus constant, les cellules plus grosses étant absorbées en plus faible quantité. Une ingestion moindre serait alors le signe de non convenance (toxicité notamment) de l'aliment proposé.

\* Variations selon la concentration de l'aliment.

Ryther (1954) a remarqué que le rythme de filtration de *Daphnia magna* en présence de *Chlorelles* diminue lorsque la concentration des algues est accrue, entraînant une stabilisation, ou du moins un accroissement plus lent, du nombre de cellules ingérées au-dessus d'une concentration seuil. Ryther attribua cet effet à des substances inhibitrices libérées dans le milieu par des *chlorelles*. Mais en réalité Rigler et Mac Mahon (1965; in Rigler 1971) ont montré que le cladocère dispose de mécanismes de régulation de son activité en fonction de la concentration de l'aliment.

\* Variations selon les caractéristiques du cladocère.

Le rythme de filtration est fonction de la taille du cladocère. Burns (1969, in Rigler, 1971) a établi que le rythme de filtration est fonction de la longueur de la carapace. De plus Schindler (1968) a constaté que l'assimilation s'avère être meilleure chez les femelles ovigères ayant six oeufs et plus que chez les femelles immatures ou portant peu d'oeufs.

\* Variation selon la température.

Le rythme de filtration croît puis décroît lorsque la température s'élève. Selon Schindler (1968), la température affecte le rythme d'assimilation mais non le rythme de prise de nourriture. Mais le rythme de filtration dépend aussi de la température d'acclimatation du cladocère.

\* Variations selon l'intensité lumineuse.

Le rythme de filtration présente en fonction de l'intensité lumineuse des variations qui n'ont pas été expliquées. On sait aussi que la relation entre le rythme de filtration et la longueur du corps se trouve affectée par l'intensité lumineuse. Selon Buikema (1975), le pourcentage de l'énergie assimilée qui est utilisé pour la croissance et la reproduction décroît avec les fortes intensités lumineuses, ce qui peut conférer une valeur adaptative aux migrations circadiennes, les fortes intensités étant de ce fait évitées.

Les expériences de Buikema (1973) ont montré que les *Daphnies* acclimatées à l'intensité lumineuse testée ont un rythme de filtration plus faible que les *Daphnies* non acclimatées. Par contre l'usage de diverses longueurs d'ondes n'entraîne pas de modifications.



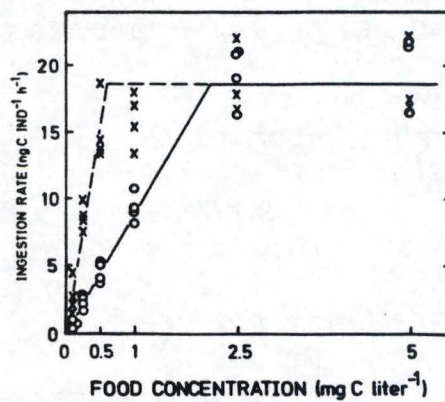
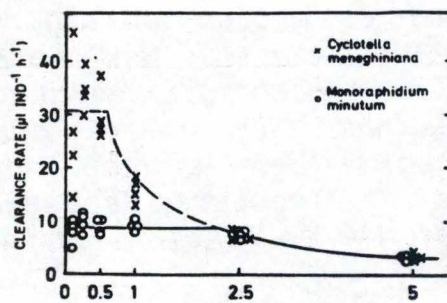


Fig. 11. Taux de filtration et d'ingestion de *Brachionus calyciflorus* en fonction de la concentration de nourriture (D'après Rothhaupt, 1990)

\* Variations circadiennes.

Les mesures faites *in situ* par Haney et Hall (1975) dans les lacs du Michigan ont révélés que chez *Daphnia pulex* et *D. galeata*, les rythmes de filtration sont notablement plus grands pendant la nuit que pendant la journée. Cette rythmicité est liée à un mécanisme endogène car elle se maintient en nuit continue. Il est par ailleurs vérifié que cette variation n'est liée ni à la température ni à la turbidité de l'eau.

Variation du taux de filtration des rotifères.

Selon Pourriot (1965), il existe un rapport entre l'alimentation d'un rotifère d'une part et la morphologie et le fonctionnement du mastax et de la couronne ciliaire d'autre part. Le fonctionnement de ces deux organes détermine le mode d'alimentation de l'animal et par là les limites des éléments absorbables. Les études sur les variations du taux de filtration des rotifères en fonction de la quantité de nourriture, la taille des particules ingérées et la qualité nutritionnelle de la nourriture proposée (Rothhaupt 1990a, b et c) ont révélé que :

- tous ces facteurs déterminent le taux de filtration et de ce fait, influencent le taux de croissance des rotifères;
- mis à part l'effet de leur taille, certaines espèces algales se révèlent être de meilleure qualité nutritionnelle que d'autres (*Cyclotella meneghiniana* semble être la nourriture qui assure un taux de croissance maximal pour les deux espèces de rotifères suivantes: *Brachionus calyciflorus* et *B. rubens*);
- en ce qui concerne la quantité de nourriture, Lampert (1977) et Lampert & Schober (1990) ont élaboré un modèle (dérivant de celui proposé par Monod (1950)) qui décrit l'influence de la concentration de nourriture sur le taux d'ingestion (voire fig 11). Les paramètres de ce modèle sont fonction de la taille de la particule, de sa qualité nutritionnelle et de sa nature algale.

Méthodes de mesure du taux de filtration et d'ingestion du zooplancton

Le taux de filtration a la dimension de volume par unité de temps est une mesure du volume du milieu ambiant contenant le nombre de cellules mangées par un animal pendant un temps donné. Ce terme n'implique pas que le volume d'eau passé à travers les appendices de filtration soit connu, ou que toutes les particules

d'un type donné soient retirées de cette eau, Néanmoins il implique que toutes les particules attrapées par les individus filtreurs soient consommées.

### 1ère méthode de mesure : Le comptage des cellules.

Cette méthode a été utilisée pour la première fois par Fuller et Clarke (1936) et par Lucas (1936).

Elle consiste à compter le nombre de cellules consommées dans un milieu avant et après une période pendant laquelle les animaux expérimentaux peuvent se nourrir. Étant donné que la période de nourrissage se prolonge généralement pendant plusieurs heures, la concentration en cellules peut augmenter par division cellulaire ou diminuer par sédimentation; il faut donc prendre certaines précautions :

--> 1°) Fuller (1937) a introduit l'utilisation de suspensions de contrôle qui contiennent le même nombre de cellules que les milieux expérimentaux, mais qui ne renferment pas de zooplancton;

--> 2°) Pour réduire la reproduction des algues, les expériences sont souvent menées à l'obscurité ou sous une intensité lumineuse inférieure au point de compensation

--> 3°) De plus afin d'éviter la sédimentation des algues, celles-ci sont maintenues en suspension par moyen mécanique

Le taux de grazing est calculé de la manière suivante (d'après Gauld, 1951):

$$f = v ((\log C_0 - \log C_t) / (0,4343 t))$$

f = taux de filtration (filtering rate) en ml/h

v = Volume de suspension en ml

C<sub>0</sub> = Concentration initiale en cellules algales par ml

C<sub>t</sub> = Concentration au temps t en cellules algales par ml

0,4343 = log e

t = temps(h)

Inconvénients de cette méthode :

1) Puisque l'objet de cette méthode est de mesurer le nombre de cellules consommées et non le nombre de cellules digérées, il est essentiel que toutes les cellules passées à travers le système digestif et non digérées ne soient pas remises en suspension dans le milieu ambiant. Cependant, les pelotes fécales sont souvent fragmentées immédiatement après être relâchées et les cellules non digérées remises en suspension.

2) L'utilisation de contrôles ne contenant pas de zooplancton assure que les produits d'excrétion du zooplancton n'affectent pas le taux de croissance des organismes fournis comme nourriture. Or Conover et Main (1962) ont observé que la concentration en cellules dans les bouteilles expérimentales à la fin de l'expérience est occasionnellement plus élevée que dans les contrôles.

### 2ème méthode de mesure : Utilisation des radioisotopes.

Récemment, l'utilisation de cellules marquées par un isotope radioactif est devenue la technique de choix dans les expériences de grazing. Trois méthodes différentes sont utilisées. La première est simplement une modification de la méthode de comptage. Pour la seconde, la radioactivité des animaux et des fèces est utilisée pour calculer l'ingestion de nourriture. Enfin, la troisième considère la radioactivité des animaux qui ont été nourris avec des aliments radioactifs pendant un temps suffisamment court pour ne pas permettre la production de pelotes radioactives.

#### a) 1ère méthode :

Les animaux se nourrissent dans une suspension de cellules algales radioactives (Malovitskaya et Sorokin, 1961). La radioactivité de matières particulaires dans un volume donné de milieu est mesurée avant et après que le zooplancton se soit nourri dans la suspension pendant un temps donné.

$$\text{Taux de filtration} = v (( \log \text{rad}_0 - \log \text{rad}_t ) / ( 0,4343 t ))$$

V = volume de la suspension en ml

rad<sub>0</sub> = radioactivité des matières particulaires au temps t<sub>0</sub>  
en cpm

rad<sub>t</sub> = radioactivité des matières particulaires au temps t en  
cpm

#### b) 2ème méthode :

Cette deuxième méthode a été développée par Marshall et Orr (1965). Les cellules algales sont marquées avec du <sup>32</sup>P et C<sub>0</sub> (concentration initiale en cellules marquées) est estimée par mesure de la radioactivité des cellules algales d'un volume connu de suspension. Cependant, on ne mesure pas C<sub>t</sub> (concentration finale en cellules marquées), mais (C<sub>0</sub>-C<sub>t</sub>) directement en mesurant la radioactivité des animaux et des pelotes fécales ainsi que des oeufs pendant la période de nutrition.

### c) 3ème méthode

Dans cette méthode, la radioactivité du zooplancton est encore mesurée, mais après une période de nutrition trop courte pour permettre la production de fèces radioactives.

Le taux de filtration ( $F$ ) exprimé en ml par jour, et le taux d'ingestion ( $I$ ) exprimé en cellules par jour, sont calculés de la façon suivante :

$$F = E ((R_z * 24) / (R_f * t))$$

$R_z$  = radioactivité d'un animal en coup par minute

$R_f$  = radioactivité des cellules algales dans 1 ml de suspension

$E$  = facteur de correction pour toute différence entre l'autoabsorption par le zooplancton et les cellules

$t$  = temps de nourrissage en heure

$$I = F * C_{AV}$$

$C_{AV}$  = concentration moyenne en cellules par ml pendant la période de nourrissage

### Mesures en conditions naturelles

Nauwerck (1959) a introduit une technique radioisotopique qui a été ensuite utilisée par Richman (1964). Dans cette méthode, le zooplancton est aussi retiré. On incube le nanoplancton avec du  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ . Quand le nanoplancton a assimilé suffisamment de  $^{14}\text{C}$  le zooplancton est introduit et peut se nourrir pendant une période inférieure à la durée de transit dans le tractus digestif. La radioactivité des animaux est mesurée et le taux de grazing est calculé. Cette méthode est très simple et si toutes les espèces de nanoplancton assimilent de façon équivalente le  $^{14}\text{C}$ , elle présente l'avantage de déterminer le taux de grazing pour tout le nanoplancton. Le désavantage de cette technique est que la fourniture de nourriture est potentiellement moins normale que dans la méthode de comptage microscopique. Non seulement le "net plancton" est retiré, mais aussi l'eau est stockée dans des bouteilles fermées pendant une période qui peut atteindre deux jours tandis que le nanoplancton assimile le  $^{14}\text{C}$ . Pendant ce temps, des changements dans la population de nanoplancton peuvent se produire (Harvey, 1941; Taylor et Collins, 1949).

Haney (1971; 1973) a mis au point une technique alternative très largement utilisée. Elle consiste à exposer pendant de courts moments du zooplancton isolé in situ dans une "chambre" à des

quantités de nourriture marquées radioactivement, mais sans retirer les animaux de leur milieu.

La chambre de Haney présente l'avantage de préserver la concentration naturelle des animaux, et donc d'éviter les changements possibles dans le comportement de nutrition. Malgré le fait que le taux de grazing mesuré reflète seulement l'ingestion des particules marquées, beaucoup de chercheurs préfèrent les cultures pures aux assemblages de phytoplancton naturels à cause de l'incertitude introduite par les différences dans l'assimilation de marqueurs radioactifs par les diverses espèces présentes dans une communauté de phytoplancton donnée.

Hart et Christmas (1984) ont amélioré cette technique. Ils ont construit une chambre de grazing basée sur celle de Haney (1971), et qui comporte diverses améliorations significatives. Ces modifications facilitent la manipulation du matériel radioactif, assurent l'étanchéité et optimisent le mélange des particules alimentaires dans la suspension de broutage.

Enfin, pour tester l'hypothèse d'un contrôle de la biomasse phytoplanctonique par l'activité de grazing, une nouvelle technique a été mise au point. Elle est basée sur l'H.P.L.C. Cette méthode a été développée récemment (Mantoura et Llewellyn, 1983). Elle permet la séparation et la quantification des pigments chlorophylliens et caroténoïdes ainsi que les formes dégradées de ces pigments. La concentration en pigments chlorophylliens dégradés (phéophorbides) par le passage dans le tractus digestif des organismes zooplanctoniques constitue un indice de l'importance du grazing. De plus, l'identification des pigments algaux dans le zooplancton permet d'approcher le problème de la sélectivité du grazing, c'est-à-dire d'indiquer la nature des groupes algaux consommés.

## Chapitre 3 La chromatographie liquide à haute performance.

### **3.1.Considérations théoriques.**

Il y a 10 ans, le terme HPLC signifiait " High Pressure Liquid Chromatography" (Chromatographie liquide à haute pression), on a trouvé plus judicieux, en raison des progrès techniques récents de l'appeler " High Performance Liquid Chromatography" (Chromatographie liquide de haute performance).

L'HPLC présente un intérêt tout particulier : elle complète aujourd'hui, de façon idéale, les techniques chromatographiques plus anciennes.

L'HPLC tend très certainement de plus en plus à supplanter la chromatographie en phase gazeuse pour le dosage de certains composés: elle est tout spécialement applicable aux dérivés thermolabiles, aux substances peu ou pas volatiles ainsi qu'aux dérivés ioniques. La majorité des substances biologiques appartenant à l'une de ces catégories, il n'est pas étonnant que l'HPLC soit de plus en plus utilisée dans le domaine biochimique.

Son essor est essentiellement dû au développement de colonnes de haute efficacité, de systèmes de détection sensibles et spécifiques et d'un appareillage de plus en plus sophistiqué. Des mélanges complexes peuvent être rapidement séparés et chacun des constituants étant analysés tant qualitativement que quantitativement.

Vers 1950, Howard et Martin (Dieu, M., comm. pers.) ont introduit la **chromatographie de partage en phase inversée** : elle fait appel à une phase stationnaire liquide non polaire et l'utilisation d'une phase mobile polaire. Il a fallu attendre 1969 pour voir ce mode de chromatographie se développer. On réalise une véritable synthèse chimique entre les groupements de surface de la silice et divers radicaux polaires ou non polaires.

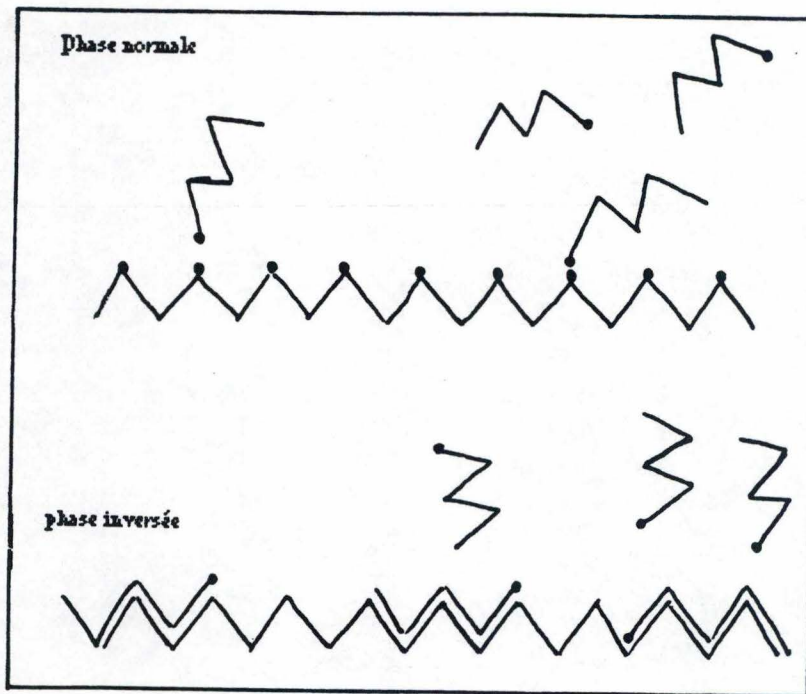
Ces phases, suivant la nature des radicaux greffés, peuvent être utilisées soit en phase normale soit en phase inversée. Elles sont stables quels que soient les solvants et systèmes de solvants utilisés.

En chromatographie en phase normale, la séparation est expliquée par l'interaction entre une phase polaire et la partie polaire de la molécule. En phase inverse, c'est au contraire la partie lipophile de la molécule qui interagit avec une phase stationnaire non polaire. Le système de solvant à utiliser est différent suivant le type de phase.

En phase inversée, contrairement à ce qui se passe en phase normale, une augmentation de polarité de la phase mobile entraîne

une augmentation des volumes et temps de rétention : l'efficacité de la séparation est augmentée (Hanocq, 1992).

La figure suivante permet de bien saisir les différences entre système direct et système inverse.



Soit une substance amphiphatique c'est à dire possédant une double tendance : à la fois hydrophile ( représentée par la petite boule) et lipophile (représentée sous la forme d'un petite bâtonnet).

En écologie aquatique, la chromatographie liquide à haute performance est un système développé qui permet la séparation et la quantification de plus ou moins 14 chlorophylles et produits de dégradation ainsi que 17 pigments caroténoïdes à partir d'échantillons de cultures d'algues et d'eaux naturelles extraits dans l'acétone.

### 3.2. Intérêts de l'HPLC en écologie aquatique.

La détermination des pigments chlorophylliens photosynthétiques, et de leurs produits de dégradation, est une des analyses les plus performantes en écologie aquatique.

Les concentrations en chlorophylle a sont couramment utilisées pour estimer la biomasse phytoplanktonique et la productivité, tandis que les produits de dégradation (chlorophyllide a,



phaeophytine a et phaeophorbide a) permettent de diagnostiquer l'état physiologique, le contenu en détritux et les processus de grazing dans les populations naturelles de phytoplancton. Les méthodes habituellement utilisées pour la détermination des trois chlorophylles a, b et c, sont basées sur des mesures en spectrométrie ou en spectrofluorométrie à partir d'échantillons extraits dans l'acétone. Cependant, ces méthodes sont souvent inadéquates vu que :

- \* Les bandes d'absorption et d'émission des chlorophylles b et c et même des bactériophylles chevauchent celles de la chlorophylle a, ce qui peut provoquer un manque de précision et même occasionnellement l'obtention de concentrations négatives;

- \* Les produits de dégradation, qui à certaines périodes constituent une fraction majeure des pigments verts sont soit non décelés, soit associés aux pigments non dégradés dont ils dérivent;

- \* Les différentes équations spectrophotométriques reportées dans la littérature aboutissent souvent à des concentrations différentes en chlorophylles pour un même échantillon;

- \* La méthode spectrophotométrique est relativement peu sensible, ce qui fait qu'elle requiert la filtration d'un grand volume d'eau;

- \* Les carotènes et les xanthophylles ne sont pas déterminés bien que ces pigments puissent être de bien meilleurs indicateurs de la biomasse algale et de différents groupes taxonomiques que les chlorophylles;

- \* L'erreur dans la prédiction de la biomasse algale par la procédure spectrophotométrique peut être aussi élevée que 75% dans l'eau et 400% dans les sédiments.

Beaucoup de ces problèmes peuvent être résolus, si les pigments sont séparés par chromatographie. La bonne capacité et sensibilité de la chromatographie liquide à haute performance a récemment été appliquée à la séparation des chlorophylles a et b, des standards caroténoïdes et de pétroporphyrines. Abayshe et Riley (1979) ont réussi à séparer les pigments chlorophylliens et caroténoïdes à partir de cultures algales par la technique de l'HPLC en phase normale, utilisant une colonne Partisil-10 silica et un détecteur d'adsorbance à 440 nanomètres. Malheureusement, cette méthode est non compatible avec les échantillons aqueux. Aussi l'HPLC en phase normale ne permet pas l'étude d'échantillons d'eaux naturelles et de sédiments extraits dans l'acétone à 90%.

En plus, du fait que les chlorophylles, ne sont pas aisément détectables par absorption, il faut préconcentrer et sécher les échantillons avant leur analyse, ce qui risque de les dégrader .

Ceci, plus d'autres facteurs (long temps d'élution, conditionnement de la colonne,...), font que l'HPLC est inadéquate pour l'étude d'échantillons environnementaux, lorsqu'elle est utilisée en phase normale.

C'est pourquoi en 1983, Mantoura et Llewellyn ont utilisé l'HPLC en phase inverse . Leur technique a permis la détermination de plus d'une trentaine de pigments algaux appartenant au phytoplancton rencontré dans les estuaires et les eaux marines. Moyennant quelques modifications, l'HPLC en phase inverse peut à présent permettre la séparation, l'identification et la quantification des pigments algaux majeurs du phytoplancton des milieux d'eaux douces.

En effet, Rudolph et Renner (1991) ont mis au point une méthode quantitative résultant d'un modèle de calcul basé sur des monocultures réalisées en laboratoires et qui permet de connaître le pourcentage de contribution de 5 groupes algaux à la biomasse totale .

En conclusion, on peut dire que dans l'étude de la composition du phytoplancton d'eau douce, et de ses relations avec les différents maillons de la chaîne trophique , l'H.P.L.C. présente deux intérêts:

1) Intérêt taxonomique.

Quiblier et al. (1991) ont montré qu'il existe un important degré de conservation des pigments chlorophylliens et caroténoïdes des algues ingérées par des daphnies, aussi la séparation simultanée de ces pigments par H.P.L.C. peut être envisagée dans le cadre de l'étude d'une sélectivité éventuelle du zooplancton herbivore lors de sa nutrition.

2) Intérêt quantitatif.

Par intégration des chromatogrammes et calcul de la concentration en pigments il est possible de quantifier le pourcentage de contribution des différents groupes algaux à la biomasse totale dans un échantillon. En effet, à partir de cultures d'algues monospécifiques, il a été établi (Wilhem et al., 1991) un coefficient xanthophylle/chlorophylle a caractéristique de cinq classes d'algues majeures du phytoplancton. Ce coefficient permettrait de quantifier la biomasse de ces classes d'algues présentes dans l'échantillon.

*MATERIEL ET METHODES*

## III . MATÉRIEL ET MÉTHODES.

### **3.1. Prélèvement des échantillons d'eau**

Le site de prélèvement choisi est celui de La Plante (Wépion - Namur). Les prélèvements ont été effectués à raison de 1 fois par semaine.

Les prélèvements d'échantillons ont été effectués soit simplement au fil de l'eau à l'aide d'un bidon polyéthylène, soit à la bouteille de Van Dorn.

Avant chaque prise d'eau, on a pris la précaution de rincer abondamment les récipients de récolte et de stockage de l'eau à analyser.

En pratique, on a procédé, de la manière suivante :

- récolte, avec bidon d'environ 5 litres d'eau.
- prélèvement de 2 litres d'eau en vue de l'examen microscopique du phytoplancton;
  - filtration sur filtres GF/C (25 mm de diamètre) d'un certain volume d'eau (100ml-1000ml) et congélation à - 4°C, à l'obscurité pour l'analyse en H.P.L.C.;
  - filtration et congélation d'environ 400 ml d'eau, sur laquelle on dosera les nutriments;
  - filtration sur filtres GF/C (préalablement passés au four à 550 °C) d'un volume d'eau compris entre 100 et 500 ml, afin de doser le carbone et l'azote particulaire.

## 3.2. Dosage des nutriments

### 3.2.1. L'azote

#### 3.2.1.1. Dosage des nitrates : méthode utilisant l'acide chromotropique (West & Ramachandran, 1966).

##### a) Principe :

En milieu acide, réaction des nitrates avec l'acide chromotropique (acide 1,8 dihydroxy 3,6- naphthaline disulfonique) pour donner une coloration jaune susceptible d'un dosage colorimétrique.

##### b) Dosage :

A une prise d'essai de 2,5 ml, on ajoute une goutte d'une solution sulfite-urée (afin d'éliminer les substances interférentes telles que les nitrites et les agents oxydants) et on place les récipients dans un bain d'eau froide. Ensuite, 2 ml d'une solution d'antimoine dans  $H_2SO_4$  conc. sont ajoutés. Après 4 minutes, ajout de 1 ml d'acide chromotropique à 0,05 % dans l' $H_2SO_4$  concentré; 3 minutes après on porte à un volume final de 10 ml avec l'acide sulfurique concentré. On agite après introduction de chaque réactif. On laisse reposer 45 minutes avant d'effectuer la lecture au spectrophotomètre à 410 nm.

#### 3.2.1.2. Dosage des nitrites : Méthode à l'acide sulfanilique (A.P.H.A., 1965).

##### a) Principe :

La diazotation de l'acide sulfanilique et la présence de l' $\alpha$ -naphtylamine donne un complexe rouge susceptible d'un dosage colorimétrique.

##### b) Dosage

Avant le dosage des échantillons, on procède à l'établissement d'une courbe étalon (5 points de 5,25, 50, 75 et 100 g/l de  $NO_2^-$  (-N) sont suffisants à l'établissement de cette courbe.

A une prise d'essai de 50 ml, on ajoute respectivement 1 ml d'une solution d'EDTA et d'une solution d'acide sulfanilique. On mélange, et on attend 3 minutes avant d'ajouter : 1 ml de solution

de naphtylamine et 1 ml de solution tampon d'acétate de sodium. Ensuite on remélange, on laisse reposer 10 minutes avant de lire au colorimètre à 510 nm.

### 3.2.1.3. Dosage de l'ammoniaque (H.M.S.O., 1981).

#### a) Principe :

L'ammoniaque réagit avec les ions hypochlorites, issus de l'hydrolyse alcaline du dichloroisocyanurate et avec le salicylate de sodium en présence de nitroprussiate de sodium, qui agit comme catalyseur, pour former un composé coloré.

#### b) Dosage :

Avant le dosage des échantillons on procède à l'établissement d'une courbe étalon (8 points de 0.04, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.9 et 1 mg/l de  $\text{NH}_4^+$ (-N)).

A une prise d'essai de 50 ml, on ajoute 4 ml de réactif salicylate et 4 ml de réactif dichloroisocyanurate de sodium. On mélange après l'addition de chaque réactif et on laisse reposer 10 minutes à la température ambiante. L'absorbance est mesurée au colorimètre à 655 nm.

## 3.2.2. Le phosphore

### 3.2.2.1. Dosage des orthophosphates (Golterman & Clymo, 1969).

#### a) Principe :

En milieu acide et en présence de molybdate d'ammonium, les orthophosphates donnent un complexe phosphomolybdiolique qui, réduit par l'acide ascorbique, développe une coloration bleue susceptible d'un dosage colorimétrique.

#### b) Dosage :

Avant le dosage des échantillons, on possède à l'établissement d'une courbe d'étalonnage (6 points de 50, 100, 200, 300, 400, 500 g/l  $\text{PO}_4^{3-}$ (-P) sont nécessaires à l'établissement de cette courbe.

A une prise d'essai de 40 ml d'eau filtrée, on ajoute 2 ml d'une solution d'ascorbique à 2 % et 5 ml d'un réactif au molybdate d'ammonium.

On attend 30 minutes à température du laboratoire avant de lire au colorimètre à 882 nm.



### 3.2.2. Dosage du phosphore particulaire.

#### a) Principe :

Le dosage du phosphore particulaire se fait sur un échantillon de matières en suspension retenues sur filtres Whatman GF/C soumis à une oxydation à chaud par le persulfate de potassium. L'oxydation, hydrolyse le phosphore liés aux matières en suspension, en orthophosphates. C'est sous cette forme que le phosphore particulaire est dosé.

b) Dosage : cfr. dosage des orthophosphates.

### 3.2.3. La silice (Golterman & Clymo, 1969)

La silice est présente dans les eaux naturelles sous forme particulaire (colloïdes) ou dissoute. C'est sous cette forme dissoute (ions siliciques) qu'elle est dosée.

#### a) Principe :

En milieu acide, les ions siliciques forment un complexe jaune avec les ions molybdates. Ce complexe doit être réduit par le chlorure d'étain en un composé bleu afin d'augmenter la sensibilité de la détection.

#### b) Dosage :

Avant le dosage des échantillons, on procède à l'établissement d'une courbe d'étalonnage (avec des concentrations réparties entre 0,1 et 1 mg/l Si). A 20 ml d'eau brute, on ajoute 2 ml d'une solution de molybdate de sodium à 5% et on laisse reposer pendant 15 minutes. Ensuite, 5 ml d' $H_2SO_4$  50 % sont ajoutés et on laisse refroidir à température ambiante avant d'ajouter 1 ml d'une solution de chlorure d'étain, après quoi la coloration bleue s'installe et peut être lue au spectrophotomètre à 815 nm.

### 3.3. Etude du phytoplancton

#### 3.3.1. Mesure de la biomasse phytoplanctonique

La mesure de la biomasse phytoplanctonique (exprimée en g/l de chlorophylle a) est déterminée après extraction des pigments à chaud par un mélange acétone/méthanol (Péchar, 1987). On filtre un certain volume d'échantillon sur un filtre en microfibrilles de verre Whatman GF/C (25 mm de diamètre). Les filtres sont introduits dans des tubes à essais dans lesquels sont ajoutés 5 ml d'un mélange acétone 90 % et méthanol dans la proportion 5/1. L'extraction dure 2 à 3 minutes dans un bain d'eau à 65° C. Ensuite, on prélève 3 ml de l'extrait pour effectuer la mesure de l'absorbance au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 665 nm, dans des cellules de parcours optique égale à 1 cm. Les échantillons sont acidifiés par ajout de 100 µl d'HCl 0,1 M, ce qui transforme les chlorophylles en phéopigments (Lorenzen, 1967). 3 minutes après l'acidification, une seconde lecture est effectuée.

La concentration en chlorophylle a "active" (non dégradée) est obtenue par la différence d'absorbance des mesures effectuées avant et après acidification, d'après la formule suivante :

$$C = (D_b - D_a) \cdot 2,439 \cdot 11,89 \cdot v / V \cdot l$$

C = teneur en chlorophylle a exprimée en µg/l,  
D<sub>b</sub> = densité optique de l'extrait avant acidification,  
D<sub>a</sub> = densité optique de l'extrait après acidification,  
v = volume de solvant utilisé pour l'extraction en ml,  
V = volume d'eau filtrée en l,  
l = longueur du trajet optique de la cellule en cm.

On utilise un facteur de conversion pour transformer la teneur en chlorophylle a en une mesure de carbone :

$$[C] \text{ en } \mu\text{g/l} = [\text{Chl.a}] \text{ en } \mu\text{g/l} \times \text{facteur de conversion}$$

Le rapport C/ Chl.a se situe habituellement entre 35 (Servais, 1987) et 40 pour la Meuse (Descy et al. 1987). Il varie suivant l'état nutritionnel et l'âge des populations algales.

### 3.3.2. Mesure des rapports C : N : P

On calcule les rapports C : N : P car ils permettent de déterminer les nutriments limitant la croissance du phytoplancton. Lorsque les rapports C : N : P sont égaux à 106 : 16 : 1, il n'y a pas de limitation par le N et le P (Goldman et al., 1979). Si les rapports mesurés s'éloignent de ces valeurs, l'un ou l'autre nutriment devient limitant (Sommer, 1989).

En dehors de cette application spécifique, les mesures permettent d'évaluer la contribution des algues à la charge organique de la rivière.

La mesure consiste en un dosage du carbone et de l'azote particulaire au moyen d'un analyseur Carbo Erba NA 1500. Une combustion à haute température en présence de catalyseur permet de transformer les matières carbonées et azotées en CO<sub>2</sub> et N<sub>2</sub>, ces deux gaz sont ensuite dosés par chromatographie en phase gazeuse.

Au préalable, on effectue une mesure de la biomasse phytoplanctonique qui permet de déterminer le volume d'eau à filtrer afin de recueillir sur le filtre en fibres de verre (Whatman GF/C environ 1 mg de matériel (algues microscopiques, matières en suspension organiques et minérales). Pour éviter toute contamination les filtres sont préalablement passés au four à 550° C. Après filtration, les filtres sont pliés et séchés 24 heures à 60° C. Les échantillons se présentent alors sous forme de matières sèches et sont placés dans un petit container en étain.

La calibration de l'appareil implique le passage d'un blanc (nacelles en étain avec un filtre GF/C) et un étalonnage avec des quantités d'acétanilide (C=71.09 % ; N<sup>+</sup> 10.89%) comprises dans une gamme de 1 à 10 mg pour les mesures de routine.

L'analyse des échantillons s'effectue de manière automatique, suivant un programme défini au niveau de l'intégrateur, où différents paramètres sont spécifiés, notamment le temps de rétention des pics correspondant à l'azote et au carbone. Le temps de rétention est fonction du type de matière analysée et des débits de gaz. Grâce à l'étalonnage, il est possible de calculer les quantités d'azote et de carbone. Le phosphore particulaire, quant à lui, est déterminé après hydrolyse par analyse chimique.

### 3.3.3. Examen microscopique du phytoplancton

Un échantillon de 1 à 2 l d'eau brute est fixé par une solution concentrée de Lugol; il est ensuite concentré et amené à un volume final d'environ 10 ml par sédimentation successive dans des cylindres de volume décroissant. La durée de sédimentation est de 24 h dans chaque cylindre; après 24 h le surnageant est siphonné et le culot d'algues est remis en suspension et transféré dans un cylindre de volume inférieur.

Le comptage des cellules et colonies algales dans l'échantillon concentrées est effectué à la "cellule de Bürker", qui comporte une zone centrale subdivisée en carrés de 0,04 mm<sup>2</sup> de surface, l'épaisseur de la préparation étant de 0,1 mm.

L'examen est réalisé avec une combinaison optique de 12,5 (oculaire) x 40 (objectif), ce qui rend possible, pour la plupart des taxons, l'identification jusqu'à l'espèce. Pour les diatomées centriques non filamenteuses, différentes espèces de *Stephanodiscus*, *Cyclotella*, *Cyclostephanos* et *Thalassiosira* ont été regroupées dans une seule catégorie. La composition de cette dernière n'a pas été approfondie à ce stade, notre but étant limité à l'évaluation de la biomasse de chaque groupe algal représenté significativement dans la Meuse.

La biomasse a été obtenue en multipliant, pour chaque campagne, la densité de cellules (ou d'unités planctoniques) d'un taxon donné par son biovolume, et en sommant les valeurs obtenues au sein de chaque groupe algal, à savoir : les Chlorophytes (*Chlorococcales*, *Volvocales*, *Desmidiées*), les Chrysophycées et Xanthophycées, les Diatomées, les Cyanobactéries, les Euglénophycées, les Cryptophycées et les Dinophycées. Les biovolumes des taxons ou catégories ont été obtenus par mesure des dimensions adéquates sur les échantillons ou repris de la littérature (dans ce cas, les valeurs ont été vérifiées par quelques mesures). Ces biovolumes sont repris en annexe.

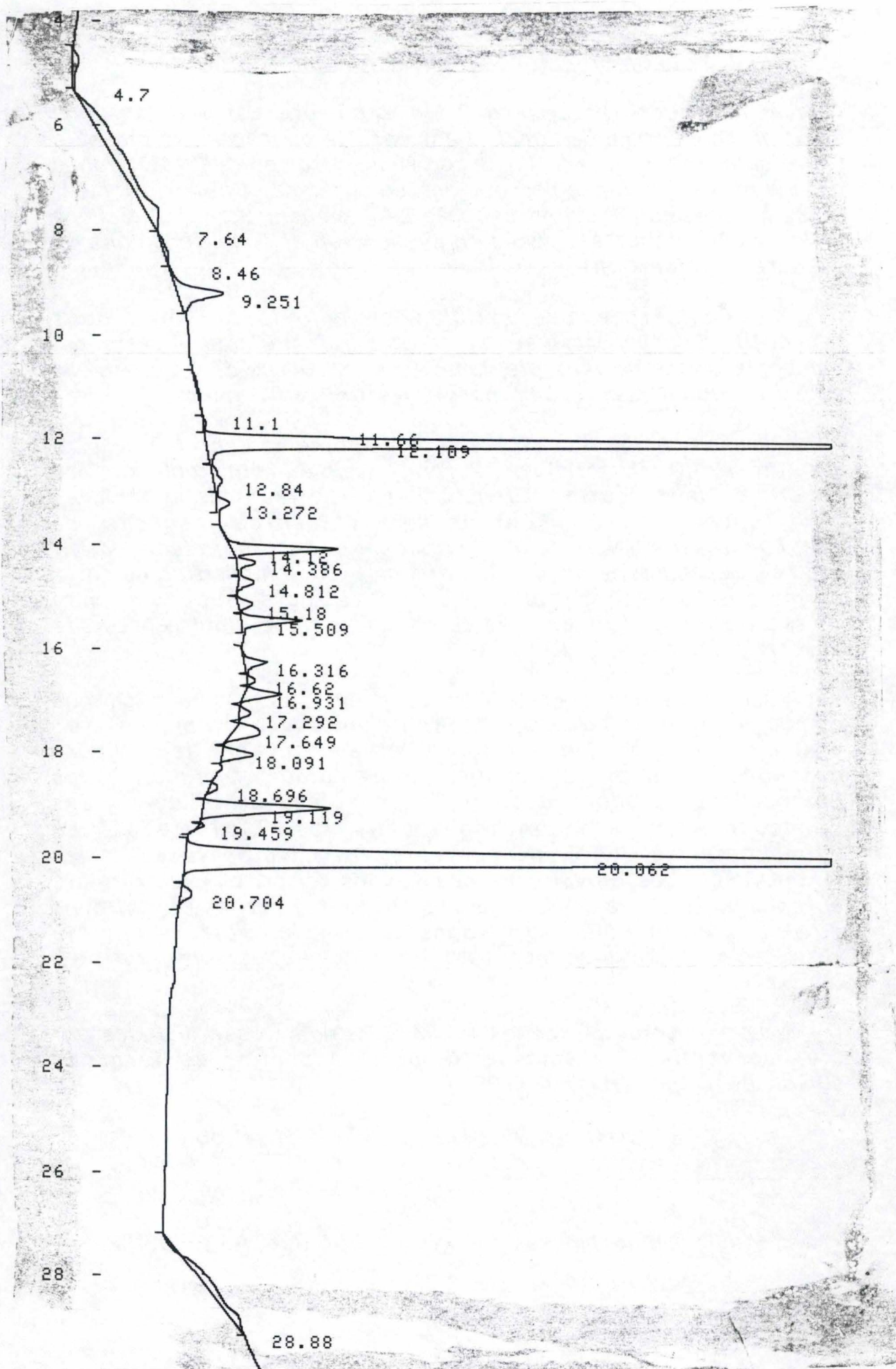
Les biovolumes totaux ( $V$ , mm<sup>3</sup>/l) par classe d'algues ont été convertis en biomasse ( $C$ , µg/l) à partir des formules suivantes (d'après H.M.S.O., 1990)

$$\log_{10} C = 0,76 (\log_{10} V) - 0,29 \text{ Mullin et al., 1966}$$

ou:

$$\text{- pour les diatomées : } \log_{10} C = 0,758 (\log_{10} V) - 0,422$$

Chromatogramme du 24/04/92



- pour les autres algues :  $\log_{10} C = 0,866 (\log_{10} V) - 0,460$   
(Strathman, 1967)

ou

$\log_{10} C = 0,892 (\log_{10} V) - 0,61$  (Eppley et al, 1970;  
Taguchi, 1976)

### 3.3.4. Séparation des pigments par l'H.P.L.C.

#### 3.3.4.1. Choix d'une méthode

Notre premier choix s'est porté sur la technique mise au point par Hurley et Armstrong (1990). En effet, contrairement aux autres techniques dérivant également de celle de Mantoura et Llewellyn (1983), celle-ci présentait l'avantage de n'utiliser que deux solvants dans l'établissement du gradient.

Dans cette méthode, le solvant initial (A) était composé de méthanol et d'une solution de tétrabutyl ammonium phosphate dans les proportions (8:2). En 20 minutes, on a fait passer le solvant d'éluion de 100% de A à 100% de B constitué de 80% de méthanol et 20% d'acétone (Hurley, 1988). 25 minutes après l'établissement du gradient, on est revenu aux conditions initiales d'éluion. Pendant toute la durée de l'analyse, le flux fut maintenu à 1,5 ml/minute.

Malheureusement, les résultats n'ont pas été concluants. En effet, cette première méthode n'a permis d'identifier que deux pigments : la chlorophylle a et la fucoxanthine. C'est pourquoi nous avons essayé d'appliquer la méthode de Mantoura et Llewellyn. Celle-ci a très bien marché, apparamment c'était le tampon (tétrabutyl ammonium phosphate) qui ne convenait pas. En effet avant d'appliquer le gradient de Mantoura et Llewellyn, nous avons essayé la méthode de Hurley et Armstrong avec comme tampon, le tétrabutyl ammonium acétate. La résolution était très bonne, mais comme la durée de la chromatographie était de 45 minutes, nous avons appliqué le gradient de Mantoura et Llewellyn. Le chromatogramme 1 illustre les résultats obtenus par la méthode de Mantoura et Llewellyn sur un échantillon d'eau récolté le 27 avril.

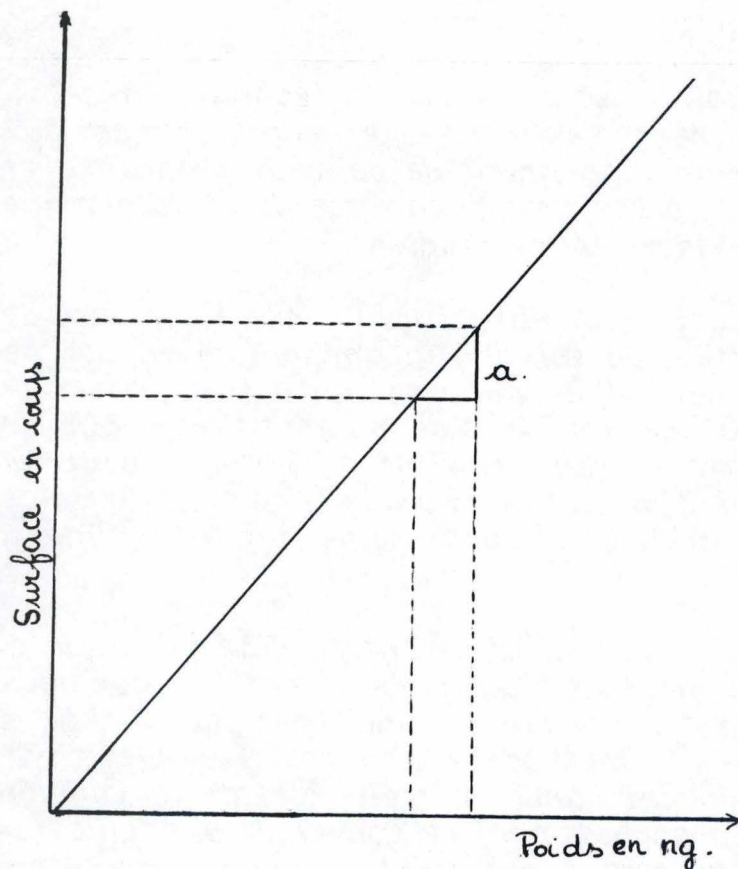
#### 3.3.4.2. Calibration

La calibration est assurée au moyen de 3 standards : la chlorophylle a, la chlorophylle b et le  $\beta$ -carotène (fourniture : Sigma Chemical Company). Les solutions stocks de ces pigments sont préparées à partir de la dissolution de 1 mg pour les

Tab.2.1.

Dilution	Conc.Chlo.a ( nanog.)	Surface pics Chlo.a	Conc.Chlo.b (nanog.)	Surface pics Chlo.b
50	200	3.25077e+5	51,20	1.64543e+5
100	100	1.52917e+5	25,60	8.1971e+4
500	20	3.0494e+4	5,12	1.2938e+4
1000	10	1.197e+4	2,56	6.541e+3
5000	2	2.716e+3	0,51	1.405e+3

Dilution	Conc.β-carotène (nanog.)	Surface pics β-carot.
50	1000	2.4564e+4
100	500	1.3684e+4
500	100	3.421e+3
1000	50	2.467e+3
5000		



- (1) surface du pic(S) = a \* poids du pigment (P) + b  
 (2) surface du pic (S) = facteur de réponse (F) \* poids du pigment (P)

des équations (1) et (2) il découle :  
 facteur F = S-b/P

chlorophylles, 5 mg pour le  $\beta$ -carotène dans 50 ml d'acétone. Les solutions stocks sont conservées au réfrigérateur à 0°C et à l'obscurité.

Afin de vérifier la linéarité de la relation entre la surface et la concentration d'un pigment, nous avons établi trois droites de calibration. Le tableau 2.1. et les figures 2.3.4.2. a, b et c rendent compte des résultats obtenus. La linéarité de la relation a été vérifiée pour les trois standards.

### 3.3.4.3. Quantification

Le principe de la quantification est basé sur l'utilisation de standards externes (ici la chlorophylle a). On injecte une quantité connue de standard et le chromatographe calcule un facteur de réponse (f) qui permet de quantifier n'importe quel échantillon de ce pigment.

Le facteur f varie en fonction du volume injecté et de "l'instrumental drift" (sensibilité) de l'appareil. Aussi la recalibration est effectuée chaque jour avant d'injecter un échantillon de concentration inconnue et le volume injecté est toujours le même.

La formule de quantification dérivée de celle proposée par Mantoura et Llewellyn est la suivante:

$$\text{poids pigment } x = \frac{\text{surface du pic } x \text{ (en coups)}}{\epsilon^{1\% 440\text{mm}}} \times f$$

ou  $\epsilon^{1\% 440\text{mm}}$  = coefficient d'extinction molaire pour une solution à 1% et à une longueur d'onde de 440nm (en  $\text{ng}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ).

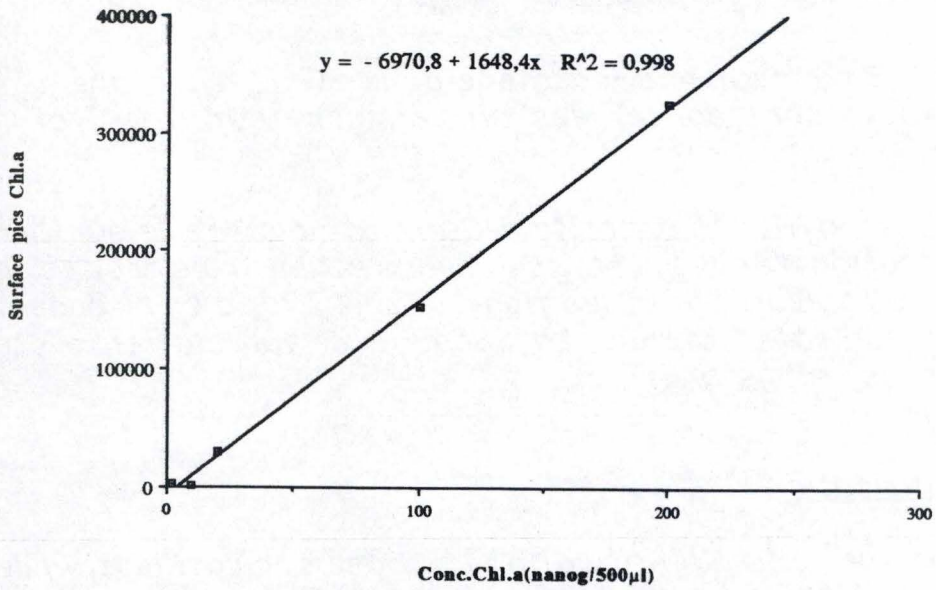
f = facteur de réponse journalier

f = ((surface chl. a en coups  $\times \epsilon^{1\% 440\text{mm}}$  chl. a) / poids chl. a en ng).

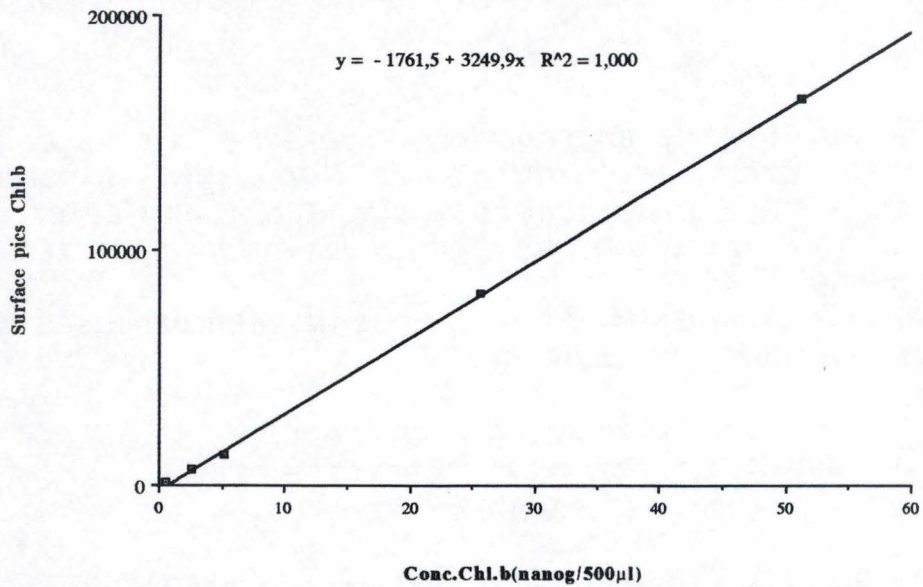
En principe, il faut ajouter un autre facteur à la formule de quantification. Ce second facteur tient compte de la valeur de la pente de la ligne de base (fixée à 1000), du drift (fixé à 2000), du flux (1,5ml/min) et de la vitesse de déroulement du papier (1cm/min). Tous ces termes étant constant pour chaque analyse, ils ne modifient pas la quantification. Aussi nous avons pris la liberté d'écarter ce second facteur de la formule de quantification (Quiblier, communication personnelle).



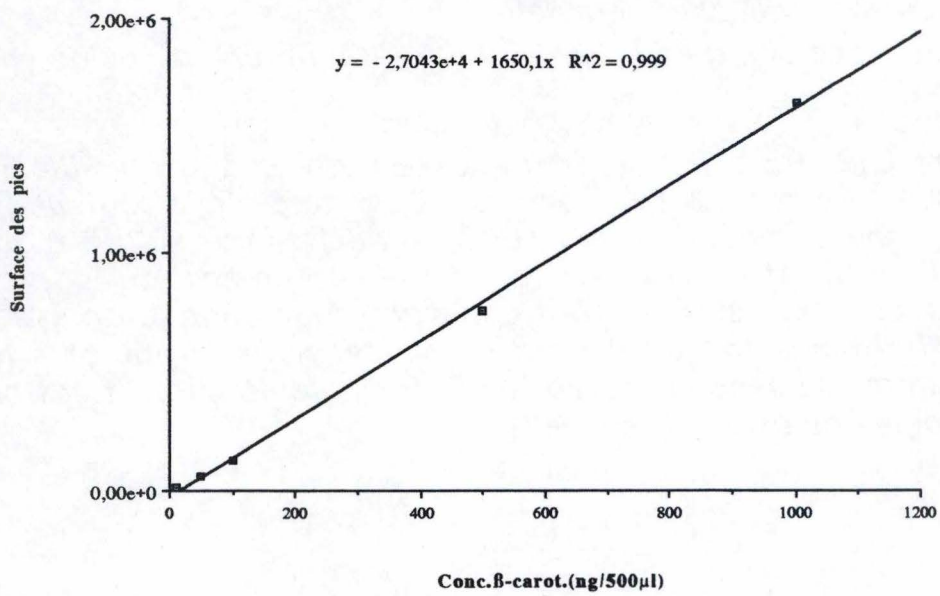
**Droite de régression pour la chl.a**



**Droite de régression pour la Chl.b**



**Droite de régression pour le B-carotène**



#### 3.3.4.4. Estimation du rendement

Afin d'estimer le rendement de l'extraction et de l'analyse chromatographique, nous avons préparé une solution de b-carotène dans de l'acétone (5 mg/50 ml d'acétone). Une dilution 25 a été effectuée dans de l'eau distillée. La solution diluée a ensuite subi les mêmes étapes d'extraction et d'analyse que les échantillons d'eau à analyser. 500 ml (poids b-carotène = 200 mg) ont été injectés et nous avons calculé les concentrations en b-carotène à partir de la formule explicitée au point précédent

Rem : l'estimation du rendement est de 92%, cette valeur est sans doute surestimée, du fait qu'elle a été établie à partir de solutions standards. Le b-carotène n'a pas été soumis aux facteurs environnementaux susceptibles de le dégrader (lumière, température élevée).

#### 3.3.4.5. Mode opératoire.

On filtre un certain volume d'eau (100 ml - 1000 ml) selon la teneur en chlorophylle a mesurée préalablement (cfr. 2.2.1.) sur un filtre Whatman Gf/C (2,5 cm de diamètre). Immédiatement après filtration, les filtres sont congelés à -4° C afin d'assurer leur stockage..

Les pigments sont extraits des filtres au moyen d'un homogénéisateur par 10 ml de méthanol froid (0 - 5° C). Les résidus de l'homogénéisation sont éliminés par centrifugation (5 minutes à une vitesse de 3000 T/min.) et si nécessaire par microfiltration à travers un filtre Nylon Acrodis 130,2 µm (VEL).

A 1000 µl de l'extrait filtré, sont ajoutés 300 µl d'une solution tampon IPR de pH 7,4 (Tétrabutylammonium acétate - ammonium acétate). Après avoir mélangé et laissé reposer pendant 5 minutes, on procède à l'injection d'un volume de 500 µl dans le chromatographe.

La séparation chromatographique des pigments est obtenue au moyen du gradient linéaire suivant :

- au temps 0 (T<sub>0</sub>) on a 100 % de solvant A constitué de 800 ml de méthanol, 100 ml de solution tampon IPR et 100 ml d'eau distillée;
- en 10 minutes, le gradient d'élution passe de 100 % de A à 100 % de B (800 ml de méthanol - 200 ml d'acétone);
- pendant 12 minutes le solvant d'élution est maintenu à 100 % de B;

Estimation du rendement: HPLC

Pigment	E%440nm	Facteur(1)	Conc. avant extraction(ng/500μ	Conc. après extraction(ng/500μl)	Rendement%
β-carotène	2209	0,457	200	182,1	91,0
β-carotène	2209	0,457	200	190,1	95,1
β-carotène	2209	0,457	200	180,1	90,2
Moyenne				184,1	92,1

(1) Facteur= ((poids de la chl.a en ng\*E%440nm chl.a)/surface chl.a en coups)

- au temps  $t=22$  min., on revient aux conditions initiales d'élution (100 % A). Les conditions sont maintenues jusqu'au temps  $t=30$  minutes.

La durée de l'analyse chromatographique est donc de 30 minutes. Pendant toute la durée de l'analyse le flux est maintenu à 1,5 ml/minute.

La détection des pics est assurée par un détecteur réglé sur la longueur d'onde de 440 nm.

La colonne utilisée pour la séparation des pigments une Hypersil ODS 5 m (Shandon) d'une longueur de 25 cm.

### 3.4. Étude des relations trophiques entre le zoo plancton et le phytoplancton - Expérience de grazing

Afin de déterminer le taux de grazing d'une espèce de rotifère (*Brachionus calyciflorus*) abondante dans la Meuse, nous avons mis au point en collaboration avec les laboratoires de Morphologie, Systématique et Ecologie animales de l'Université de Liège, une expérience de mesure du taux de grazing à court terme (15 minutes). Cette mesure est effectuée par l'utilisation d'algues (*Dictyosphaerium ehrenbergianum*) marquées radioactivement par l'isotope  $^{14}\text{C}$ .

#### 3.4.1. Culture d'algues

Le milieu de culture utilisé est celui de Schlösser (1982) dont la composition est la suivante :

##### 1) milieu synthétique

Macroéléments		Microéléments	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,04 g/l	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01 mg/l
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,01 g/l	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,01 mg/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,025 g/l	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,02 mg/l
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	0,02 g/l	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	
0,002mg/l		$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,05 g/l		
0,002mg/l			
Fe-citrate	0,01 g/l	<u><math>\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}</math></u>	<u>0,00005 mg/l</u>
		100 ml d'eau distillé	
		+ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,7 g
		+ EDTA	0,4 g

2) Solution vitaminée

Cyanocobalamine (vit B12)	16 mg
Thiamine (vit B1)	200 mg
Biotine (vit H)	8 mg
Nitrate de sodium	5,6 g
Glycérophosphate de sodium	0,8 g
Eau distillée	1 Litre

Les solutions de macroéléments et de vitamines sont stérilisées séparément par filtration (filtre Millex 0,22  $\mu\text{m}$ ). La solution vitaminée est ajoutée à raison de 10 ml par litre de milieu synthétique (solution de macro- et microéléments).

### 3) Conditions de culture

La culture est maintenue à une température de 25 °C et placée en jour long (16 h de lumière) sous une intensité lumineuse de 8000 lux. La culture est aérée au moyen d'air stérilisé sur filtre Millipore (0,22  $\mu\text{m}$ ) et placée sur agitateur magnétique.

### 3.4.2. Elevage des rotifères

Les élevages de rotifères ont été effectués à l'université de Liège (Laboratoires de Morphologie, Systématique et Ecologie animales) à partir d'oeufs résistants de *Brachionus calyciflorus* fournis par le Professeur Persoone (Laboratoire de recherche biologique en pollution aquatique, Université de Gand)

#### Milieu d'élevage

Initialement, les oeufs durables sont déposés dans une boîte de Pétri contenant de l'eau de Volvic. L'incubation est maintenue pendant 24 heures à une température de 25 °C en lumière continue. L'éclosion a lieu entre 22 et 48 heures plus tard. On place ensuite une centaine de rotifères par boîte de culture de cellules (Costar) d'un volume de 250 ml contenant chacune 150 ml d'eau de Volvic. Leur oxygénation est assurée par un apport d'air permanent. Les conditions de température et de lumière sont identiques à celles appliquées aux cultures d'algues.

Le nourrissage quotidien des rotifères est assuré par une suspension algale préalablement centrifugée et resuspendue dans du milieu frais. La suspension algale est ajoutée de manière à atteindre une concentration de 300000 à 600000 cellules algales/ml de milieu d'élevage, suivant la densité de rotifères.

Un repiquage hebdomadaire des rotifères dans du milieu frais est effectué afin d'éviter une trop grande accumulation d'algues et de rotifères morts ainsi que d'excrétas.

### 3.4.3. Mesure du grazing

La durée de l'expérience (15 minutes) est inférieure au temps de passage des aliments à travers le tube digestif de *Brachionus calyciflorus* estimé à 20 minutes (Starkweather et Gilbert, 1977; Haney et al., 1986).

#### 3.4.3.1. Marquage des algues

Les algues sont marquées par l'ajout de 200 microcuries de  $^{14}\text{C}$  par litre de milieu de culture sous forme de  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ . Ce radio-isotope est rapidement assimilé par les algues sous lumière continue. Une culture témoin sans radioisotope permet d'effectuer les comptages des algues sans risque de contamination de l'opérateur. Les algues séjournent 24 h à 48 h dans le milieu contenant du  $^{14}\text{C}$  avant d'être centrifugées et resuspendues dans du milieu frais en vue du nourrissage des rotifères.

#### 3.4.3.2. Expérience de grazing

Un volume déterminé de milieu d'élevage (fonction de la densité de rotifères dans le milieu d'élevage) comprenant 75 individus est prélevé et dilué dans 40 ml d'eau de Volvic. On ajoute à ces 40 ml, une quantité d'algues non marquées de densité égale à 600000 cell/ml; on laisse les rotifères s'acclimater durant une heure à cette densité algale.

Ensuite, les rotifères sont filtrés sur du filet à plancton (de maille carrée de 61  $\mu\text{m}$  de côté) et replacés dans 40 ml d'eau de Volvic en présence d'une quantité déterminée d'algues marquées au  $^{14}\text{C}$ .

Au temps zéro ( $T_0$ ), 10 ml de milieu contenant les rotifères et les algues marquées sont prélevés et filtrés sur filtres Millipore (0,45  $\mu\text{m}$ ) pour mesurer l'activité initiale des algues. Après 15 minutes, les rotifères sont isolés par filtration sur du filet à plancton de maille carrée de 61  $\mu\text{m}$  de côté. Après quoi ils sont anesthésiés durant deux minutes dans de l'eau carbonique (pour éviter une éventuelle régurgitation) et tués par immersion durant 2 minutes dans du formol à 4%.

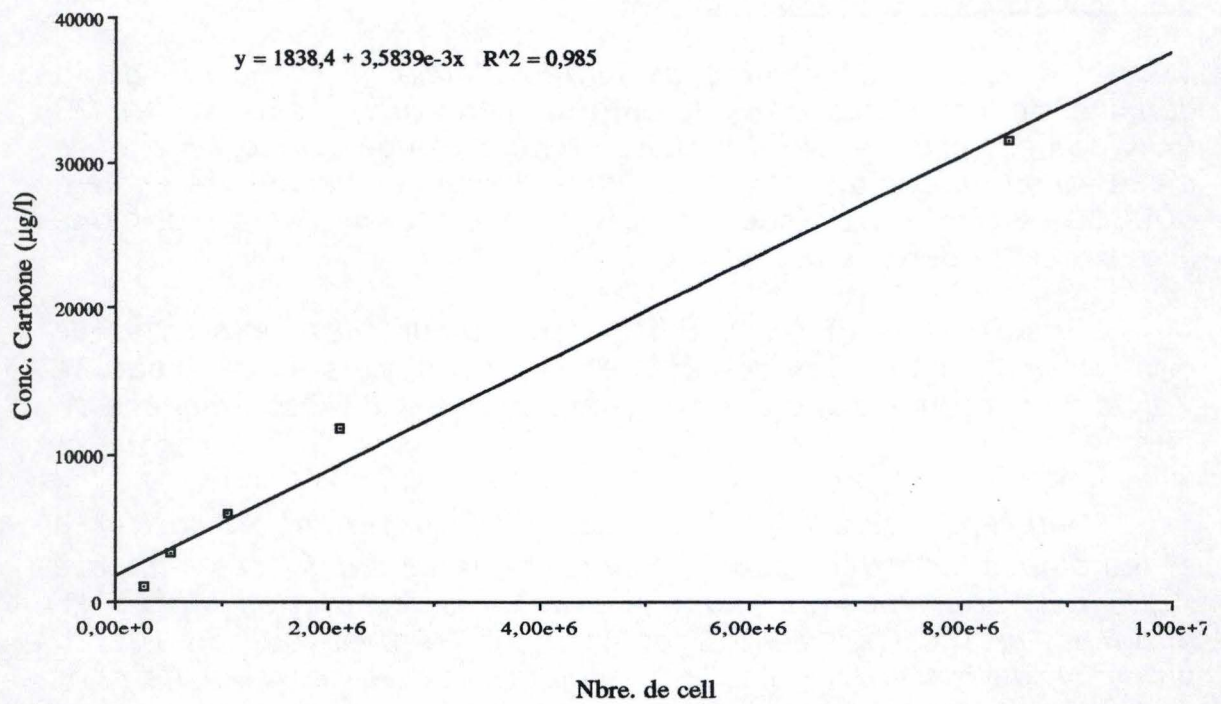
On récupère les rotifères dans de l'eau de Volvic par lavage du filet et on les compte sous une loupe binoculaire avant de les placer 1 à 1 dans des fioles à scintillation. C'est cette façon de



Tab. 2.1.

	Nbre. de cell	Abs.(680nm)	Carbone( $\mu\text{g/l}$ )
1	8437500	1,8	31523,50
2	2109375	0,5	11756,00
3	1054688	0,2	5963,75
4	527344	0,1	3367,25
5	263672	0,1	995,50

Fig.2. Relation conc. en C et nbr. de cellules.



procéder qui permet de connaître précisément le nombre de rotifères dont l'activité radioactive est mesurée.

Dans chaque fiole on ajoute 500  $\mu$ l de Protosol (Dupont de Nemours), afin de dissoudre le matériel cellulaire, ainsi que 5 ml de liquide scintillant. 24 heures plus tard, les fioles à scintillation sont placées dans le compteur qui mesure la radioactivité en cpm (coup par minutes).

Le taux de filtration en  $\mu$ l/ind/heure est donné par :

$$f(\mu\text{l}/\text{ind}/\text{heure}) = \text{activité des rotifères (cpm/individu)} / \text{activité des algues (cpm/ml)} \times 4 \times \text{volume de suspension} (\mu\text{l})$$

Le taux d'ingestion en cellule algale/ind/heure est donné par :

$$I(\text{cel.alg}/\text{r}/\text{h}) = f \times \text{concentration en cellules algales testées}$$

cel.alg/r/h = nombre de cellules algales ingérées par rotifère et par heure.

cpm = coups par minute.

Le taux d'ingestion est exprimé aussi en ng C/r./h. En effet une expérience préliminaire a été effectuée dans le but d'établir la relation entre la concentration en C (mg/l) et la densité algale (nombre de cellules/ml). On peut donc convertir le nombre de cellules ingérées en ng de carbone ingérés.

Les résultats de la relation carbone-nombre de cellules algales sont représentés au tabl. 2.1. et à la fig.2.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

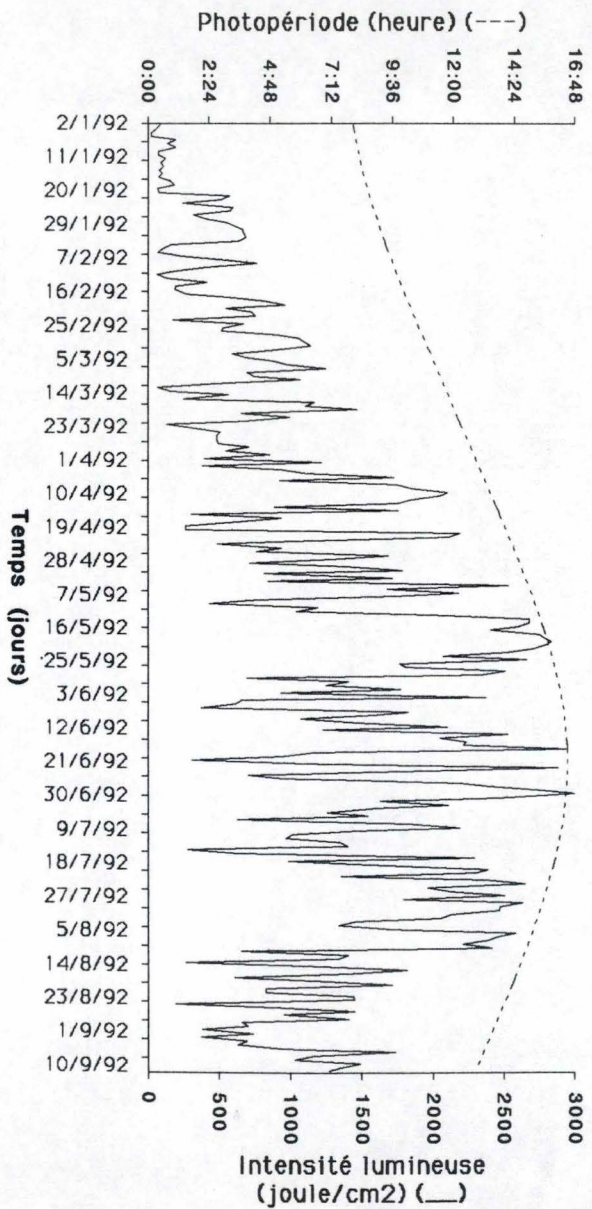


Fig. 4.2 : Evolution de la photopériode et de l'intensité lumineuse en fonction du temps, Station de Tailfer, Données CIBE 1992.

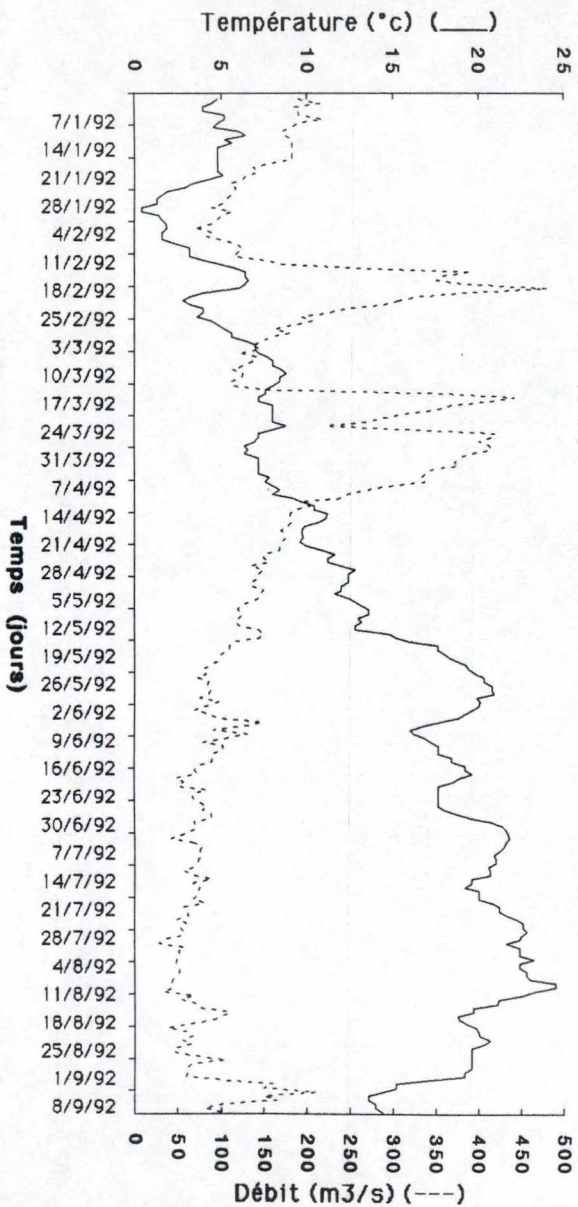


Fig. 4.1 : Evolution de la température et du débit en fonction du temps, Station de Tailfer, Données CIBE 1992.

## IV. RESULTATS ET DISCUSSION.

### **4.1. Analyses physico-chimiques**

#### 4.1.2. Evolution de la température

Les données obtenues concernant l'évolution de la température de la Meuse sont présentées à la figure 4.1.

D'une façon générale, on constate une augmentation progressive de la température jusque début août. Lorsque notre étude a commencé (fin janvier), la température de la Meuse était de 1,5 °C, elle est montée à 7,5 °C le 11 mars, ce qui a contribué au premier accroissement de la biomasse phytoplanctonique. Le maximum de température enregistré fut de 23 °C, durant la semaine du 3 au 9 août. Ensuite la température s'est mise à décroître pour atteindre 13 °C le 16 octobre.

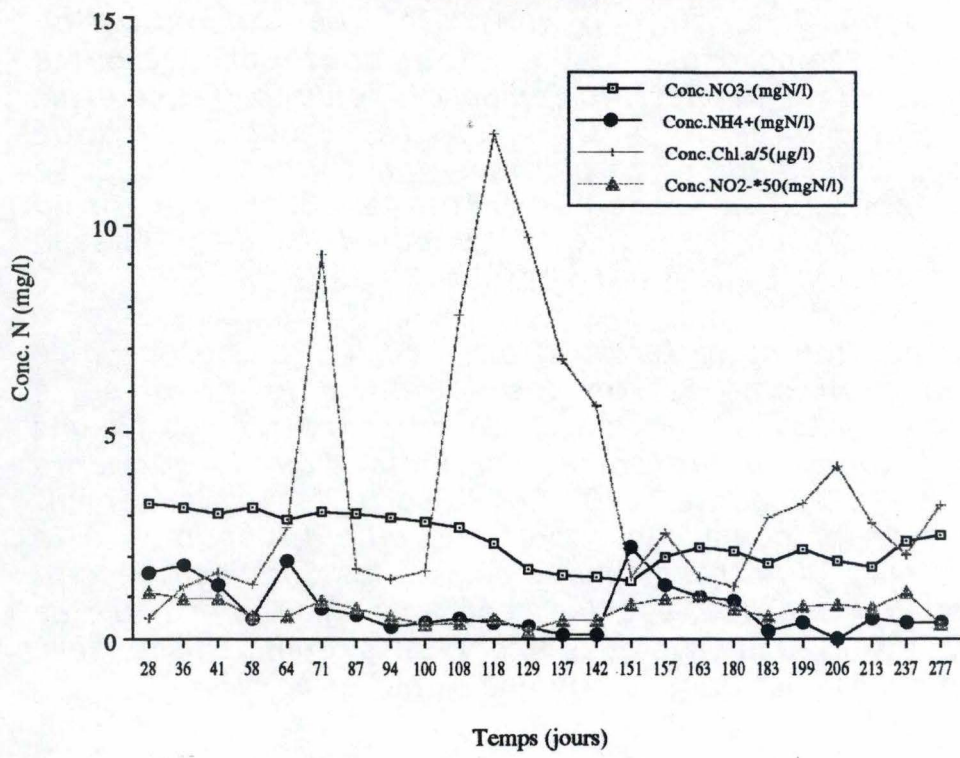
L'augmentation de la température liée à une photopériode croissante au printemps est un des facteurs qui favorise le développement des algues : on voit d'abord apparaître des taxons d'eau froide (bloom de diatomées du mois d'avril, quand la température de l'eau dépasse 10°C). Par la suite, le réchauffement des eaux crée en principe des conditions plus favorables à la croissance d'algues plus thermophiles comme les Chlorophycées. Il est cependant difficile de dissocier l'effet de la température de celui des autres facteurs physiques importants, comme la lumière (irradiance en surface et dans la colonne d'eau) et le débit.

#### 4.1.2. Evolution du débit

L'évolution du débit de la Meuse est présenté à la figure 4.1., par les valeurs moyennes hebdomadaires. Son influence sur le phytoplancton se situe a priori à plusieurs niveaux :

- l'apport de matières en suspension provenant de l'érosion du bassin versant (-> effet sur la transparence de l'eau, faible en période de débit élevé, induisant une limitation par la lumière),
- l'apport des nutriments (surtout des nitrates) par lessivage des sols lors des précipitations,
- une dilution d'autant plus importante que dans un tronçon de longueur  $x$ , l'augmentation du débit est plus forte.

**Fig. 4.1.4.1. Dosage de l'N dissous.**



### 4.1.3. Evolution de l'intensité lumineuse

La figure 4.2. présente l'évolution de l'intensité lumineuse et de la photopériode au cours du temps. Par l'action combinée de la réflexion et de l'atténuation, la lumière incidente se modifie dans l'eau en quantité et en qualité. Aussi, lorsque le débit est élevé et que la charge en matières en suspension dans l'eau est importante, une intensité lumineuse élevée en surface ne permet pas toujours au développement phytoplanctonique de se produire.

### 4.1.4. Evolution des nutriments dissous et particulaires

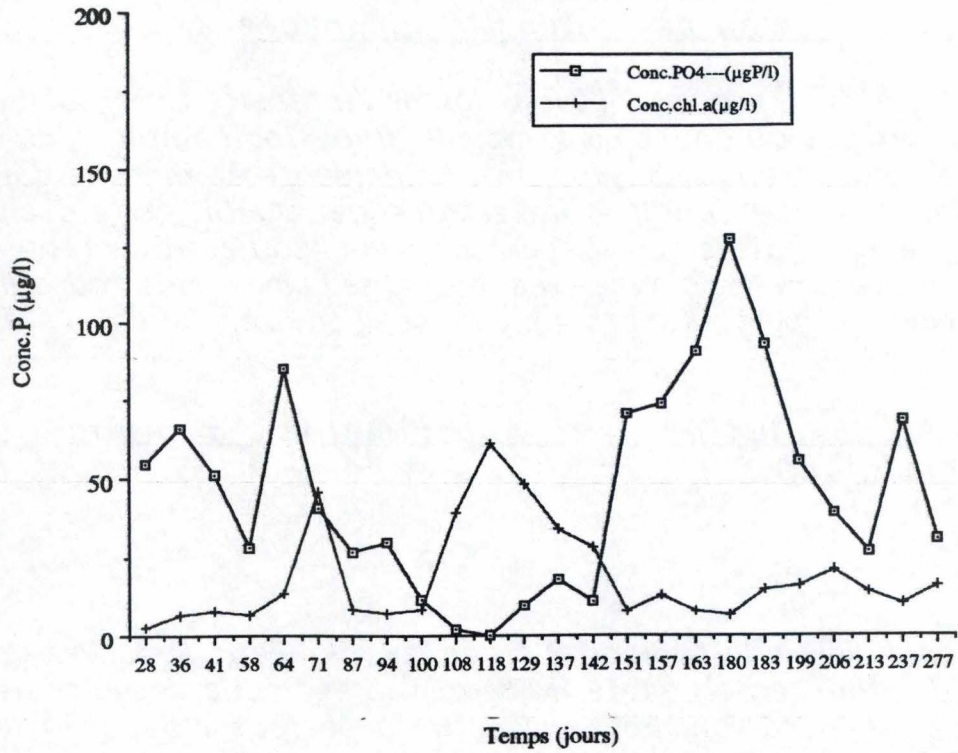
#### 4.1.4.1. L'azote minéral

Si on examine le tableau 2 en annexe, on peut observer que la forme dominante de l'azote inorganique est celle des nitrates avec une concentration moyenne pour la période d'observation égale à 2,41 mg N/l. Les deux autres formes d'azote minéral, nitrites et ammoniacque sont présentes en quantité beaucoup plus faibles tout au long de l'année. En effet la concentration moyenne en nitrites est de 0,013 mg N/l et en ammoniacque de 0,074 mg N/l. Le fait que les nitrates soient la forme dominante d'azote minérale dans la Meuse est l'indice d'une bonne oxygénation de l'eau mais découle surtout du fait que le lessivage des sols du bassin versant est largement prédominant dans les apports d'azote nitrique aux eaux de surface. Il est à noter aussi que les valeurs moyennes obtenues pour les nitrates et nitrites sont du même ordre de grandeur que celles obtenues par Henriette (1987) (2,4 mg N/l pour les nitrates et 0,011 mg N/l pour les nitrites). Si l'on examine (fig. 4.1.4.1.) l'évolution de la concentration en nitrates au cours du temps, on voit que celle-ci fluctue grosso modo en raison inverse du débit. Les concentrations sont comprises entre 1,39 mg N/l (en période de faible précipitation) et 3,29 mg N/l (en période de forte précipitation).

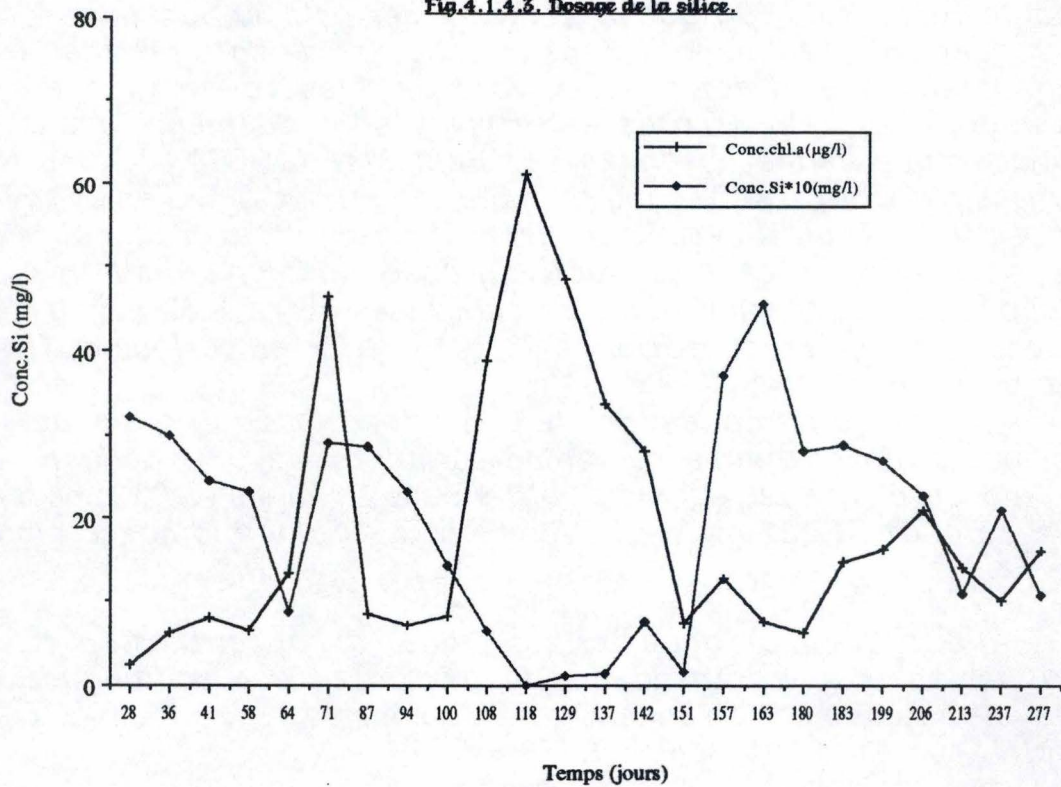
En ce qui concerne les nitrites, l'évolution de la concentration au cours du temps est irrégulière. Cependant on peut observer que les deux pics obtenus le 27 mars (0,018 mg N/l) et le 22 août (0,022 mg N/l) coïncident avec une biomasse algale élevée.

Pour l'ammoniacque, on voit que la concentration reste relativement faible tout au long de la période d'échantillonnage. On trouve une gamme de concentration comprise entre 0,01 et 0,22 mg N/l.

**Fig.4.1.4.2. Dosage du P dissous.**



**Fig.4.1.4.5. Dosage de la silice.**





Il est à noter que la concentration en ammonium est une indication assez fiable du niveau de pollution organique des eaux de surface (Halen & Descy, 1992). Selon le système d'évaluation proposé par ces auteurs, la concentration moyenne en  $\text{NH}_4^+$  situe le degré de pollution organique en classe de qualité 2, dans une échelle d'évaluation en 5 classes (de 1=bonne qualité à 5=très forte pollution).

#### 4.1.4.2. Les orthophosphates (Tabl. 1 en annexe, fig. 4.1.4.2.)

L'évolution des orthophosphates au cours du temps est influencée à la fois par les rejets domestiques et par la biomasse planctonique. En effet, si on examine la fig. 4.1.4.2., on observe à partir de fin mars jusqu'en mai une relation inverse entre l'évolution de la concentration en chlorophylle a et en orthophosphates. Lorsque la biomasse d'algues augmente, cela entraîne un appauvrissement des nutriments (dont le phosphore et la silice pour les Diatomées) largement consommés.

Ensuite, quand la biomasse du phytoplancton décroît, les concentrations en phosphore remontent jusqu'à des valeurs qui resteront relativement élevées pendant tout l'été. Il est cependant délicat de déduire de l'appauvrissement temporaire en P de fin avril-début mai qu'il y a une limitation effective par le P, dans la mesure où l'on ne connaît pas l'état nutritionnel des algues : celui-ci peut-être approché par l'analyse du P particulaire (voir plus loin).

Contrairement à l'azote inorganique, la source principale d'apport du phosphore minérale) provient des rejets domestiques et industriels et non du bassin versant, ce qui explique que les valeurs maximales soient observées en période de faible débit (c'est-à-dire au moment où l'influence des rejets en rivière est la plus marquée).

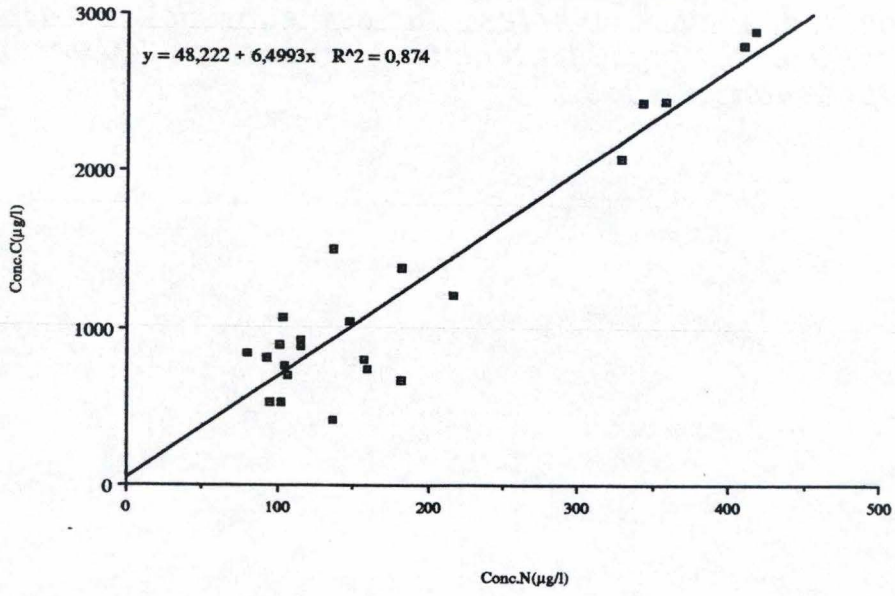
#### 4.1.4.3. La silice (Tabl. 1 en annexe, fig 4.1.4.3.)

À la fin de l'hiver, lorsque la biomasse phytoplanctonique est faible, on observe de fortes teneurs en silice (2,32 à 3,22 mg Si/l).

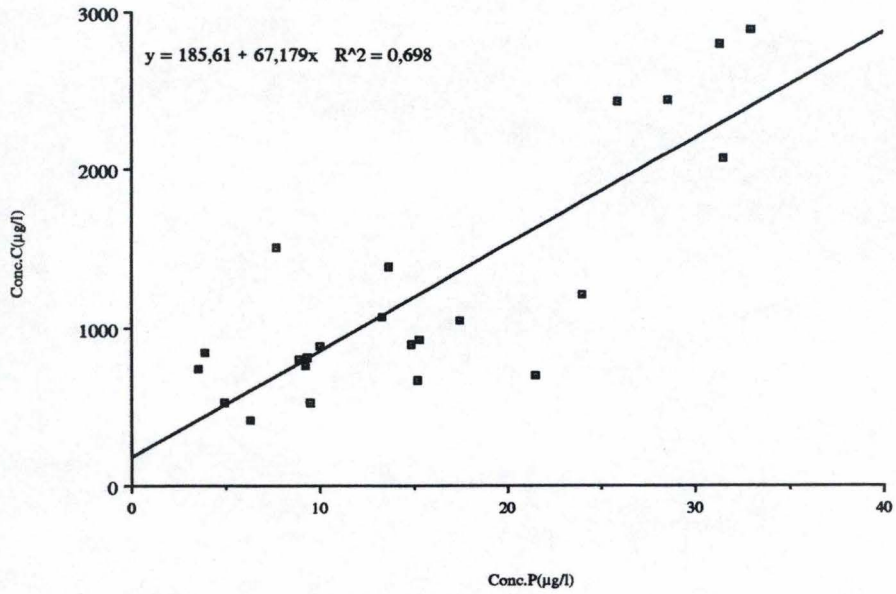
L'effet du "bloom" algal printanier, constitué essentiellement par des diatomées centriques (voir plus loin), sur la concentration en Si est très net; la concentration de ce nutriment ne réaugmente que quand la biomasse phytoplanctonique diminue. De nouveau, il est difficile de conclure de ces observations s'il y a ou non une limitation par la silice qui s'installe suite à

*l'assimilation de celle-ci par les diatomées. On peut tout au plus constater qu'il y a un épisode de forte demande en Si quand le "bloom" de diatomées se constitue. L'appauvrissement en Si qui s'ensuit est peut-être un des facteurs favorables au développement des algues vertes, qui est sans doute favorisé aussi par l'augmentation de l'intensité lumineuse et l'élévation de la température (voir plus loin).*

**Fig 4.1.4.4 Relation carbone - azote.**



**Fig 4.1.4.4.6 Relation carbone - phosphore.**



#### 4.1.4.4. Carbone, azote et phosphore particulaire.

Le tableau 2 en annexe présente les résultats des dosages de C, N et P particulaires. Rappelons que les valeurs de concentrations obtenues représentent le C, N, et le P associés au matériel retenu sur les filtres GF/C. Cette "matière en suspension" est composée de particules minérales, de débris organiques et de plancton (essentiellement du phytoplancton).

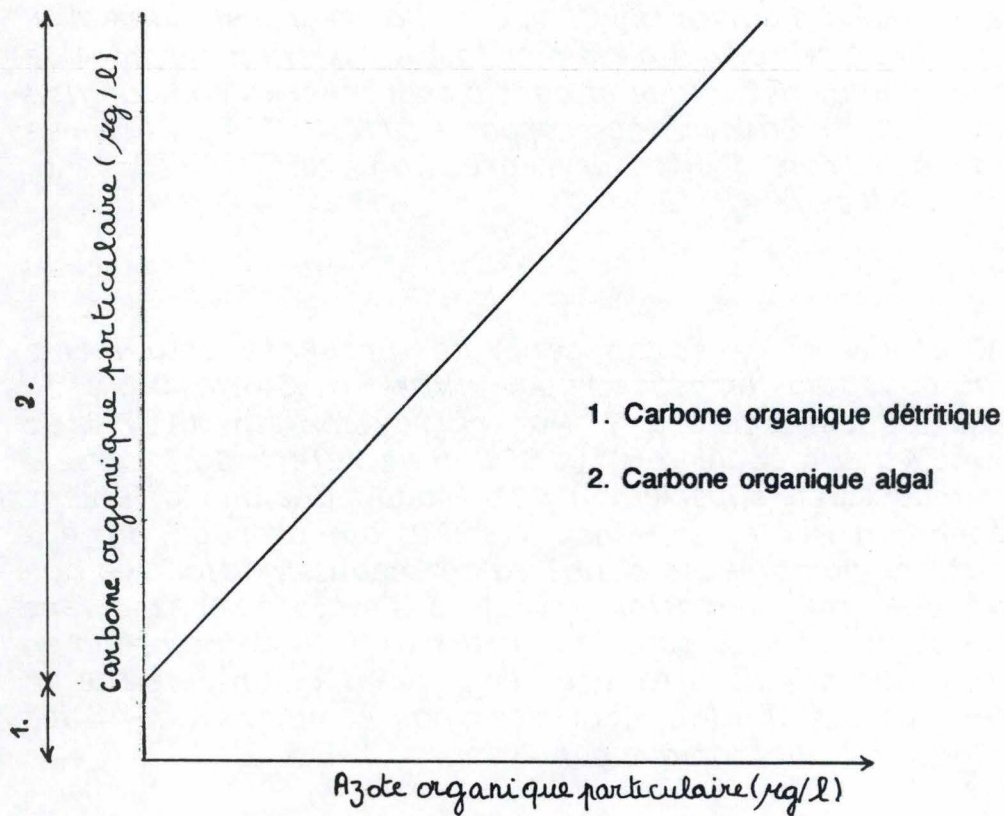
Afin d'évaluer la possibilité de limitation de la croissance algale par l'un ou l'autre nutriment essentiel (N, P) nous avons calculé les 3 rapports suivants : C/N, C/P par régression linéaire. La régression linéaire permet d'estimer la contribution moyenne de la matière organique détritique et donc d'approcher la composition élémentaire du phytoplancton. Les rapports C/N, C/P sont estimés par la pente des trois droites de régression (voir fig. 4.1.4.4.a, 4.1.4.4.b et 4.1.4.4.c).

##### a) Rapport : C/N

Le C et l'N d'une façon générale, présentent la même évolution au cours du temps. Le rapport varie de 3,0 à 10,3 et la valeur moyenne est égale à 7. Par régression linéaire, nous obtenons une valeur égale à 6,50. Si l'on se réfère au "Redfield ratio", un rapport C/N supérieur à 6,65 traduit une limitation par l'azote. Cependant Healey et Hendzel (1980) ont proposé, suite à des vérifications par bioessais, une valeur seuil significative au-delà de laquelle une limitation effective s'installe chez divers espèces : ce seuil est de 8 pour le rapport C/N. Si on ne prend en considération que nos résultats, on en conclut qu'on se situe en dessous des valeurs limites. Ceci n'est pas étonnant au vu des concentrations en N inorganique dans l'eau.

A la figure 4.1.4.5., nos données sont replacées dans l'ensemble des résultats de mesure de COP et NOP des deux dernières années. Le bon ajustement des points à la relation linéaire confirme la constance de la composition en C et N organiques de la matière en suspension de la Meuse. Celle-ci résulte du double fait que :

- la contribution de la fraction organique détritique au COP et au NOD est faible,
- que la composition élémentaire du phytoplancton est très constante, les valeur du rapport C/N étant proches du Redfield ratio, ce qui est caractéristique d'un milieu non carencé en N inorganique.



### Calcul de la concentration en carbone algal particulaire.

#### Principe de la méthode.

Si la contribution de la fraction détritique des matières en suspensions est plus ou moins constante, la relation entre le carbone organique particulaire (COP) et l'azote organique particulaire (NOP) dépend de la biomasse phytoplanctonique.

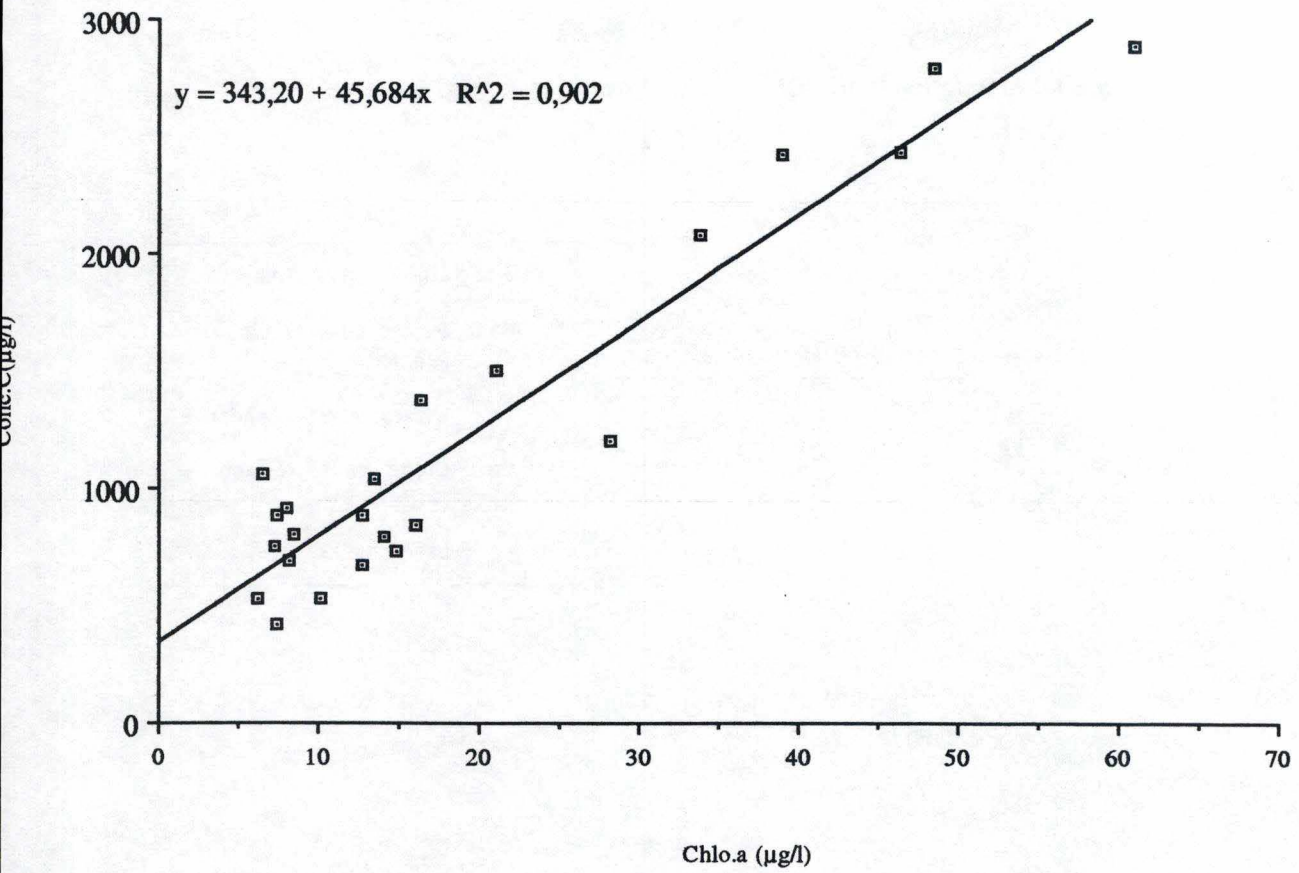
ceci s'écrit:  $COP = a * NOP + b$

$a$  = rapport C/N moyen du phyto

$COP - b = C$  algal

$b = C$  détritique

**Fig. 4.1.4.4.c Relation carbone - chl.a**



**Fig.4.1.4.5. Relation PON/POC**

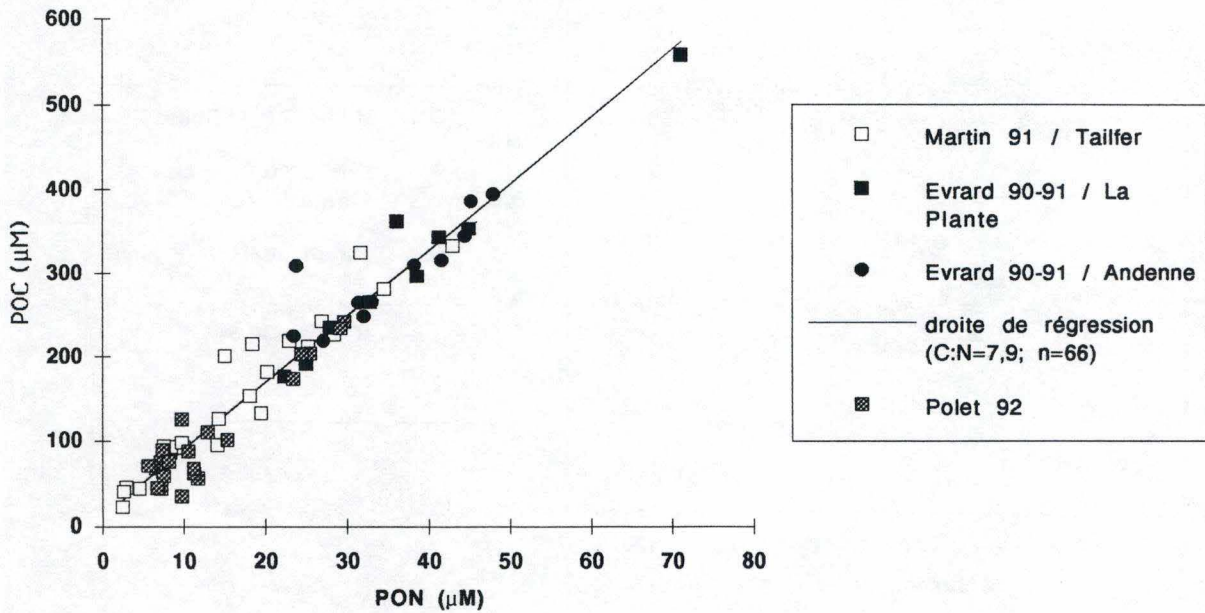


Fig.4.1.4.6. Relation POC/PON

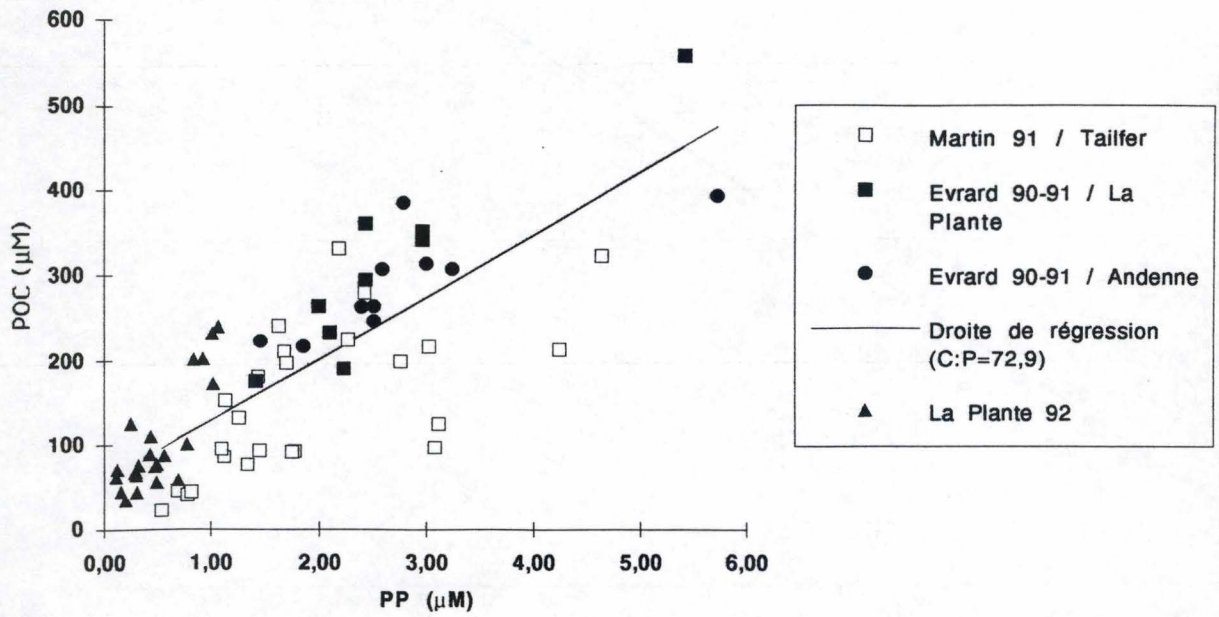
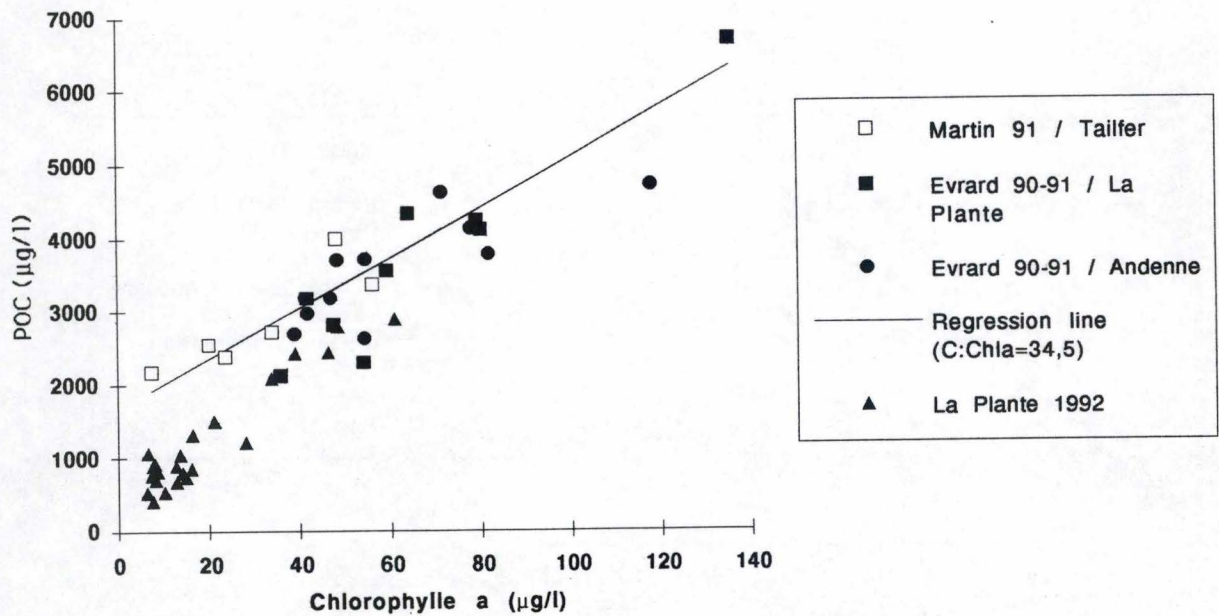


Fig.4.1.4.7. Relation POC/Chl.a



## b) rapport C/P

La relation entre le COP et le PP dans nos échantillons et dans ceux des deux dernières années est montrée aux fig 4.1.4.6 a et b.

On remarque une plus grande dispersion des valeurs, qui est sans doute attribuable à la diversité des formes de P particulaire : P absorbé sur les M.E.S. inorganiques (argiles surtout), P lié à la matière organique détritique, P lié à la biomasse phytoplanctonique. Il serait donc inexact de considérer que le rapport C/P donné par la régression linéaire soit représentatif du seul phytoplancton. On peut tout au plus constater que la valeur obtenue est largement inférieure au Redfield ratio, ce qui indique qu'une limitation du phytoplancton par le P est improbable. Afin de connaître le taux d'assimilation du phosphore par les algues, il conviendrait d'étudier ce phénomène via l'utilisation de bioessais.

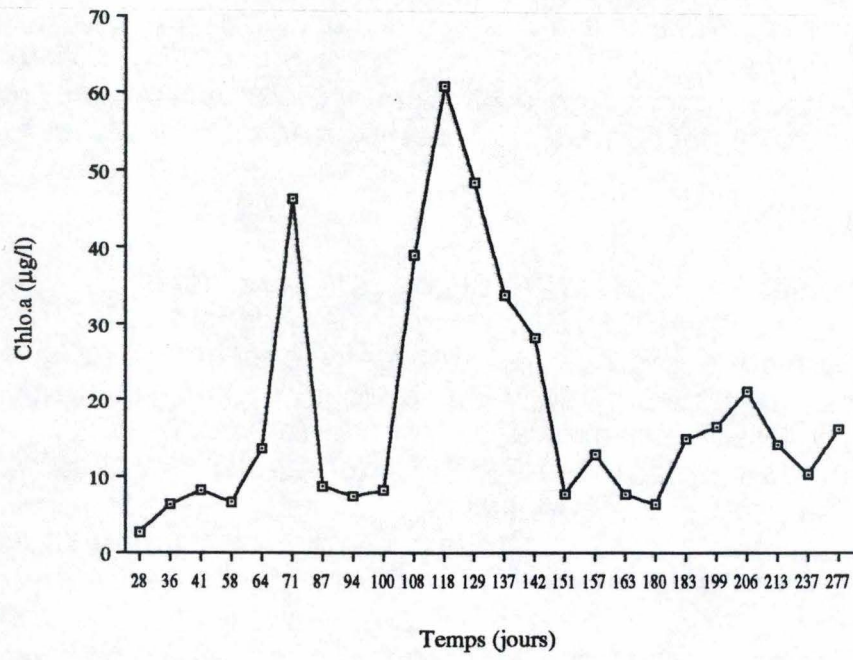
## c) Rapport C/Chl.a

Pour la Meuse, le rapport C/Chl.a est considéré comme étant égal à 35 (Servais, 1987). Il permet de calculer la concentration en carbone algal à partir de la concentration en Chl.a. Les valeurs du rapport COP/Chl a lors de notre étude s'étalent de 43,7 à 165,7. La droite de régression Carbone-chl.a (fig. 4.1.4.4.c) donne une valeur de 45,7 (cf. fig. 4.1.4.7). Lorsqu'on calcule le rapport à partir des données des années 1991 et 1992 on obtient une valeur égale à 45,3. Nous pouvons donc calculer le C algal pour chaque prélèvement, en multipliant la concentration en Chl.a par le facteur 45,3. Le carbone algal déduit du carbone organique permet de calculer la contribution du carbone détritique.

En conclusion on peut dire, qu'en ce qui concerne les données générales sur la dynamique du phytoplancton, elles n'ont pas montré de grandes variabilités par rapport aux années antérieures. En période d'étiage, pendant la saison hivernale, l'apport de l'azote via les bassins versants est plutôt faible. Aussi l'activité du phytoplancton est réduite et sa biomasse ne dépasse pas quelques mg/l de chlorophylle a/l. Lorsque la température de la Meuse a atteint les 10 °C on a pu observer l'apparition du premier "bloom" algal. Ce premier "bloom" était essentiellement constitué de Diatomées. Pendant toute la bonne saison, nous avons observé que le peuplement algal était principalement constitué de Diatomées et de Chlorophytes. Ces dernières constituent les deux classes algales dominantes en Meuse.



**Fig.4.2.1.**  
**Evolution de la conc. en chl.a**  
**au cours du temps.**



## 4.2. Biomasse et composition phytoplanctonique.

### 4.2.1. Evolution de la biomasse phytoplanctonique.

Afin d'étudier les variations de la biomasse phytoplanctonique au cours du temps, nous avons dosé la chlorophylle a par la méthode de Pechar (1987).

La fig.4.2.1. illustre l'évolution de la biomasse algale depuis le 28 janvier jusqu'au 16 octobre. On peut observer qu'un premier pic apparaît le 11 mars ( $46,4\mu\text{gchl.a/l}$ ). Ce premier développement algal est rendu possible par la hausse progressive de la température et par un débit relativement faible à cette époque. En avril, la biomasse algale augmente à nouveau pour atteindre la valeur de  $60\mu\text{g/l}$  le 27 avril. Un troisième pic se manifeste le 17 juillet mais d'intensité plus faible ( $16,3\mu\text{g/l}$ )

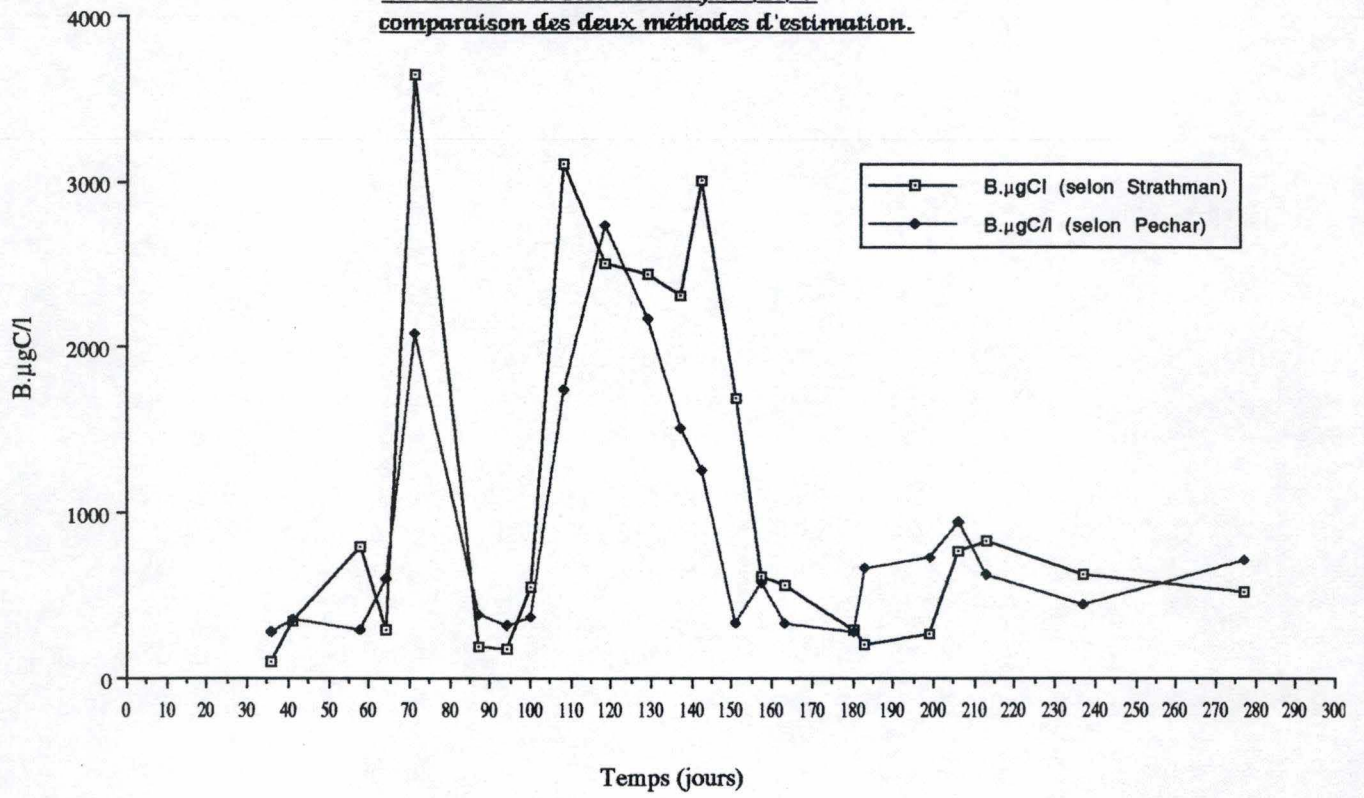
Nous avons vu (cfr. point 4.1.4.) que l'évolution de la biomasse algale dans la Meuse n'est pas contrôlée par les nutriments, vu l'abondance de ceux-ci. Elle dépend essentiellement de la température, de l'intensité lumineuse et du débit. Cependant, les facteurs biotiques modifient aussi la biomasse algale: le grazing est un de ces facteurs qui intervient sur le peuplement algal, tant au niveau de sa composition, qu'au niveau de sa biomasse. L'influence du grazing est bien visible dans les résultats de 1992 : le pic de fin avril est suivi par une décroissance progressive, et, malgré les conditions de débit, température et intensité lumineuse favorables, la biomasse se maintient à un niveau assez faible. Ceci ne peut s'expliquer que par le développement du zooplancton qui consomme la production algale.

Dans notre étude, l'évolution du zooplancton n'a pas été suivie en détail, mais sa dynamique en Meuse est bien connue, notamment grâce aux travaux récents de Marneffe (1989) et de Sanderson (1991). L'influence du grazing peut cependant être constatée au niveau de la composition du phytoplancton : pendant la majeure partie de l'été celui-ci comporte des colonies (comme les Chlorophycées du genre *Dictyosphaerium*, ou les Diatomées du genre *Aulacoseira*) ou des grandes algues unicellulaires (grandes Diatomées centriques, Cryptophycées du genre *Cryptomonas*, Dinophycées).

Enfin, des observations qualitatives ponctuelles réalisées en 1992 ont montré que les rotifères, abondants à la fin du printemps, disparaissent rapidement au début de l'été, sans doute suite à la prédation par les alevins de Cyprinidés, dont le

recrutement a été très important cette année. C'est sans doute cette prédation des poissons sur le zooplancton qui permet à la biomasse algale de remonter au milieu de l'été.

**Fig.4.2.2.**  
**Evolution de la biomasse algale (B.) :**  
**comparaison des deux méthodes d'estimation.**



#### 4.2.2. Evolution de la composition phytoplantonique.

L'observation microscopique des échantillons d'eau fixés au Lugol permet de suivre la dynamique des peuplements algaux. Les tableaux 3. et 4 en annexe nous indiquent, que de fin janvier à début avril (du 28 janvier au 9 avril) le peuplement algal est dominé par des diatomées centriques (non identifiés à ce stade, mais il s'agit probablement de différents taxons du genre *Stephanodiscus*). On retrouve également à cette époque quelques Chlorophytes (abondance de *Coelastrum microporum* le 11 mars) et sporadiquement apparition de Cyanobactéries (du genre *Oscillatoria*) et de Cryptophycées (du genre *Chroomonas*).

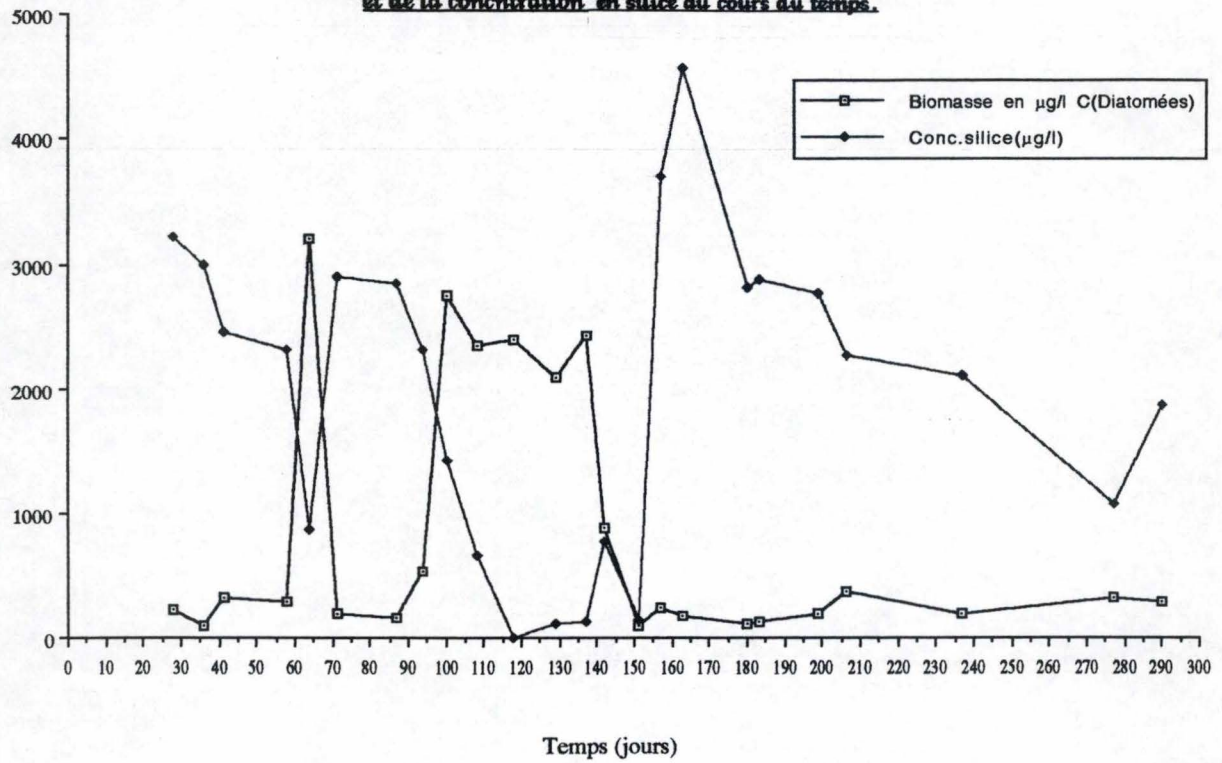
Du 14 avril au 21 mai, la biomasse algale augmente fortement. On assiste alors à l'apparition du bloom printanier de diatomées (toujours constitué de *Stephanodiscus* spp. avec *Nitzschia acicularis* et *Aulacoseira ambigua*) accompagné du développement de divers Chlorophytes. De fin mai à la mi-octobre, le peuplement algal est toujours dominé par des Diatomées (*Aulacoseira ambigua* et *Skeletonema potamos* sont les deux espèces les plus rencontrées) et par des algues vertes (*Dictyosphaerium ehrenbergianum*, diverses espèces du genre *Scenedesmus*, etc...). on trouve également des Dinophycées les 17, 24 juillet et 22 août du (genre *Peridinium*) un peu de Cyanobactéries et de Cryptophycées (*Cryptomonas ovata* et occasionnellement une densité assez élevée du petit flagellé *Chroomonas acuta*).

La fig.4.2.2. présente la comparaison des deux méthodes d'estimation de la biomasse du phytoplanton utilisées dans ce travail. Rappelons qu'il s'agit, dans le cas de la Chl.a, d'une mesure très globale basée sur l'extraction des pigments d'algues retenues sur un filtre, après filtration de 0,5 à 2 l d'eau de Meuse; dans l'autre cas, l'obtention de la biomasse est le résultat d'un comptage des taxons algaux sur un échantillon concentré à partir de 1 à 2 l d'eau de Meuse, puis de calculs basés sur la densité de ces taxons et leur biovolume, fournissant un biovolume globalisé par classe d'algues, finalement converti en C par des formules de conversion.

On peut constater que, malgré les cumuls d'erreurs et d'imprécisions que ce dernier type de méthode implique, la correspondance des deux estimations de la biomasse est très satisfaisante. Si la correspondance n'est pas parfaite, cela tient essentiellement, d'une part, à la marge d'erreur sur les comptages de cellules ou de colonies algales (le coefficient de variation est typiquement de l'ordre de 15 à 50%) et, d'autre part, à l'estimation des biovolumes, en particulier des "Diatomées centriques", qui ont

*été regroupées en une seule catégorie, qui comporte en fait divers taxons de tailles très différentes, dont la proportion varie d'un échantillon à l'autre.*

**Fig.4.2.3. Evolution de la biomasse de Diatomées  
et de la concentration en silice au cours du temps.**



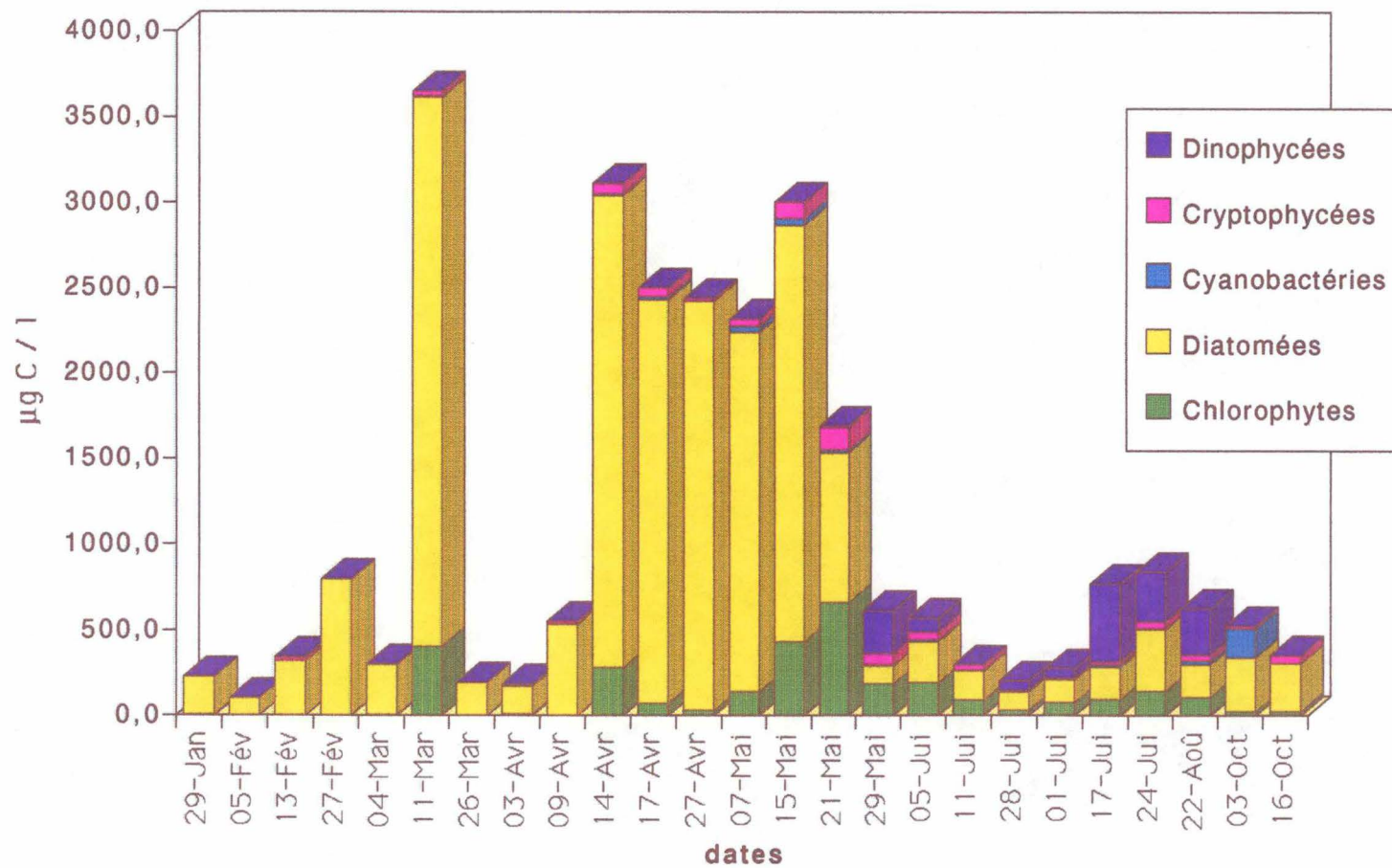
Une relation remarquable entre un facteur abiotique, la silice et la biomasse du phytoplancton, en particulier des Diatomées, est montrée aux fig.4.1.4.3. et 4.2.3. La relation observée montre l'impact de la croissance des Diatomées sur la teneur en Si dans l'eau de la Meuse : la demande en Si est supérieure aux apports (dissolution des roches du bassin versant), de sorte que la concentration devient faible ou nulle. Ceci montre que, même dans un fleuve, les Diatomées jouent un rôle majeur dans le cycle biogéochimique de la Si (ce qui a été montré plusieurs fois dans les lacs).

On peut émettre l'hypothèse que l'épuisement en Si (ou la modification du rapport Si/P) peut expliquer la diminution temporaire de la croissance des Diatomées observée à la fin du printemps et en été. Cette diminution de la croissance des Diatomées aurait permis aux algues vertes de prendre plus d'importance au moment où elles sont favorisées par la température, l'intensité lumineuse et peut être par un grazing sélectif.

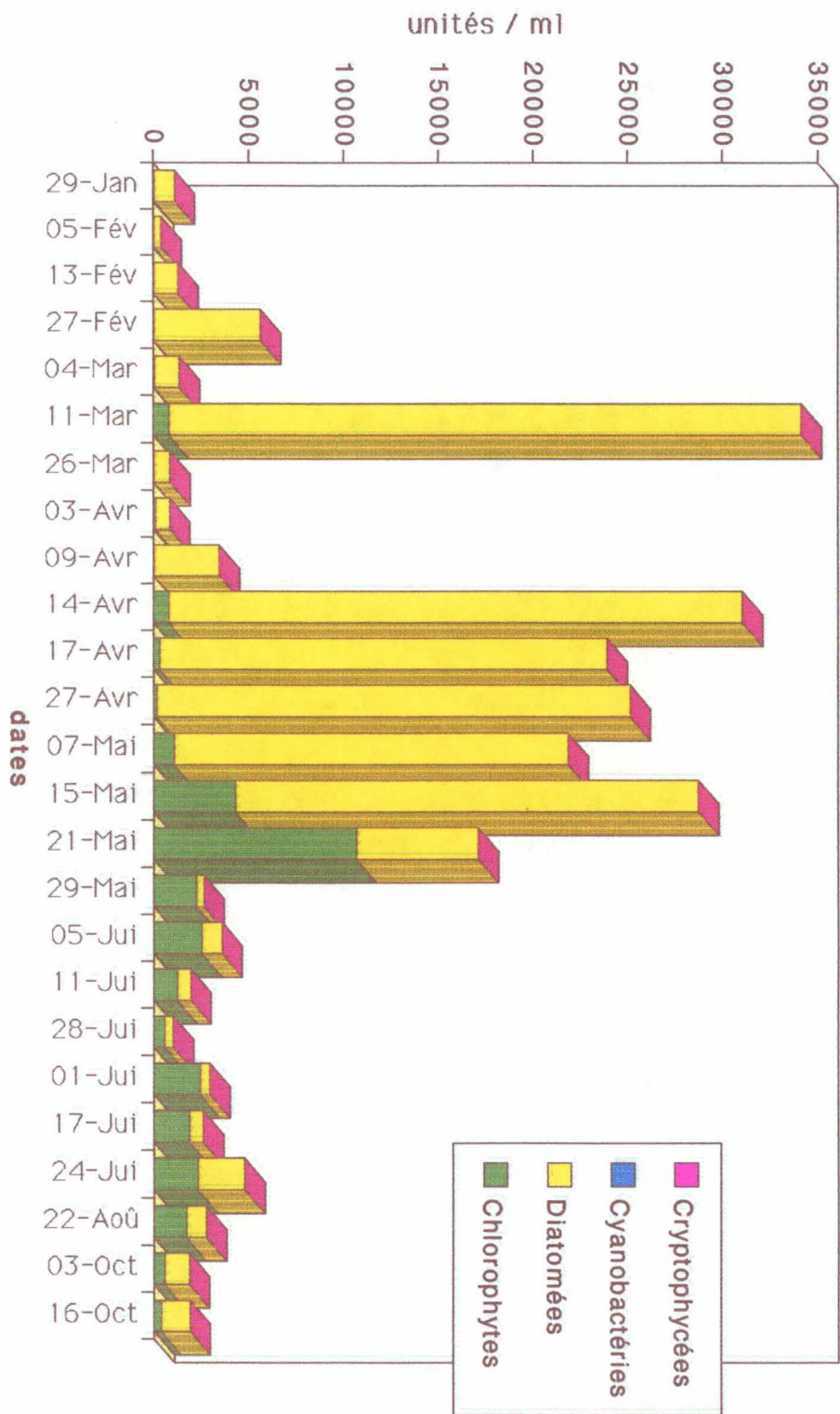
Les histogrammes 4.2.2. a et 4.2.2..b représentent les proportions relatives des différentes classes d'algues à la biomasse phytoplanctonique totale. L'histogramme 4.2.2.a permet d'apprécier les fluctuations de densité au cours du temps, et l'histogramme 4.2.2.b illustre bien la domination du peuplement algal par les Diatomées et les Chlorophytes. On peut ainsi constater que le premier pic printanier est constitué en grande partie par des Diatomées. A partir du 7 mai, la densité de Chlorophytes augmente de façon significative alors que les autres classes d'algues présentent toujours un effectif réduit.



Histogramme 4.2.2.b Biomasse phytoplantonique



Histogramme 4.2.2.a Densité phytoplanctonique



### 4.3. Analyse des résultats obtenus en HPLC.

Le tableau 4. présente les différentes valeurs de concentrations des pigments identifiés à chaque échantillonnage. Les pigments détectés régulièrement sont, outre la chlorophylle a, la fucoxanthine, l'hexanoyl-fucoxanthine, la chlorophylle b, la lutéine et la diadinoxanthine. Nous avons aussi détecté temporairement la diatoxanthine, l'alloxanthine et la B-carotène. La zéaxanthine a été observée aussi sporadiquement ainsi que les chlorophylles c1 et c2. Nous supposons que la faible fréquence d'apparition des chlorophylles c est liée à un problème d'identification car ces deux pigments sont présents chez les diatomées, abondantes dans chaque échantillon.

Nous n'avons jamais détecté la présence de péridinine (malgré l'apparition en fin d'été de quelques espèces du genre *Peridinium*), d'échinénone et de myxoxanthophylle, ces deux dernières étant rencontrées chez les Cyanophycées.

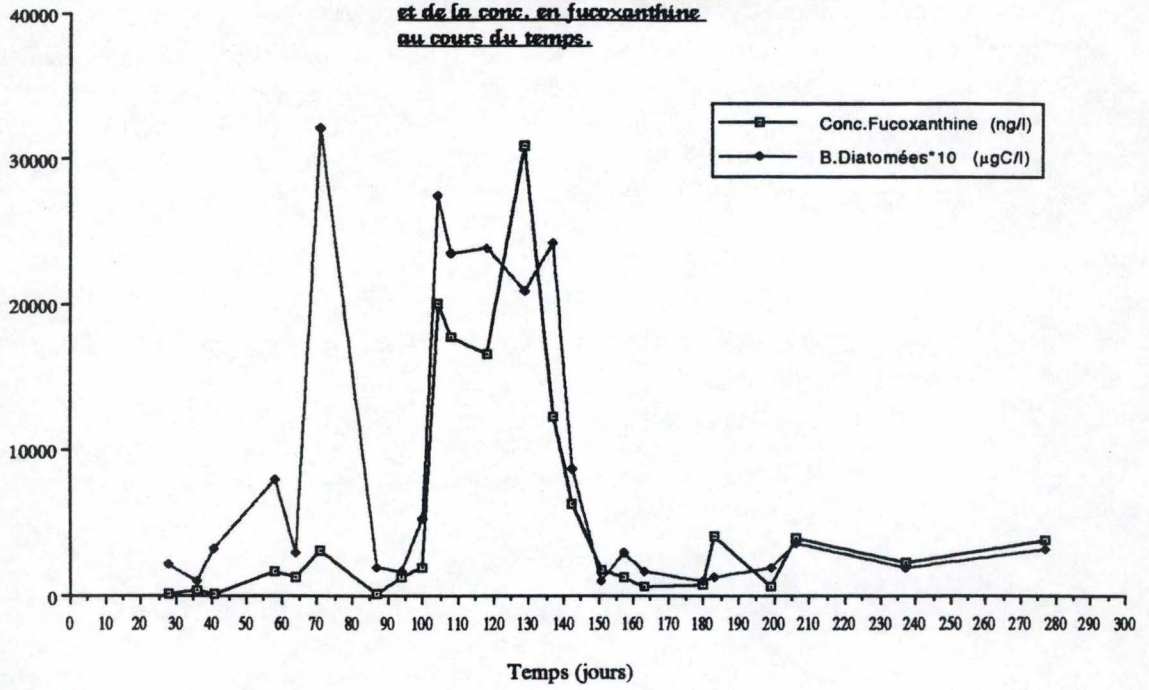
En ce qui concerne la chlorophylle a, on constate que globalement les concentrations obtenues après analyse chromatographique (chl.a"+chl.a+chl.a') sont similaires à celles calculées à partir du dosage spectrophotométrique à 665nm (méthode classique de Pechar, 1987). La fig.4.3.1. rend compte de l'évolution de la concentration de ce pigment au cours du temps. Si on examine cette figure, on peut observer que les deux méthodes aboutissent à une évolution semblable. Toutefois, on observe une discordance de résultat pour le 71<sup>ème</sup> jour, c'est à dire le 11 mars. Nous avons émis l'hypothèse que la différence résultait sans doute d'une extraction insuffisante de la chlorophylle a lors de l'analyse en HPLC. Cela peut s'expliquer par le fait que nos premiers échantillons d'eau ont été filtrés sur des filtres GF/C de diamètre de 47 mm et non de 25 mm. En effet, on a constaté lors de l'étape d'extraction des pigments dans le méthanol, que celle-ci était d'autant plus performante que la taille des filtres était petite. C'est pourquoi, à partir du 17 avril, toutes nos filtrations ont été effectuées sur des filtres de diamètre égal à 25 mm.

Afin de rendre compte du rôle de biomarqueurs joué par certains pigments (cfr. tabl.1 de la synthèse bibliographique), nous avons établi les quatre relations suivantes:

- 1) évolution de la biomasse de Diatomées et de la concentration en fucoxanthine;
- 2) évolution de la biomasse de Chlorophytes et de la concentration en chlorophylle b;

- 3) évolution de la biomasse de Chlorophytes et de la concentration en lutéine;
- 4) évolution de la biomasse de Cryptophycées et de la concentration en alloxanthine.

**Fig.4.3.2.**  
**Evolution de la biomasse (B.) de Diatomées**  
**et de la conc. en fucoxanthine**  
**au cours du temps.**



## 1) Relation fucoxanthine - diatomées.

En ce qui concerne cette première relation, la fig.4.3.2. révèle que la concentration en fucoxanthine suit globalement l'évolution de la biomasse de Diatomées au cours du temps. Deux points s'écartent de cette relation. Il s'agit du 71<sup>ème</sup> jour (le 11 mars) et du 137<sup>ème</sup> jour (le 15 mai).

L'examen microscopique des échantillons d'eau indique, pour le 11 mars, l'apparition du premier "bloom" de Diatomées (observation confirmée par le dosage de la Chl.a). La concentration en fucoxanthine est anormalement basse ce jour-là. Le problème résulte sans doute (comme pour la Chl.a) d'une extraction incomplète des pigments. Pour l'échantillon du 15 mai (jour 137), c'est la biomasse en Diatomées qui est inférieure à celle attendue. Cela peut résulter d'une sous-estimation de la biomasse algale à partir des comptages (cfr. point 4.2.2.).

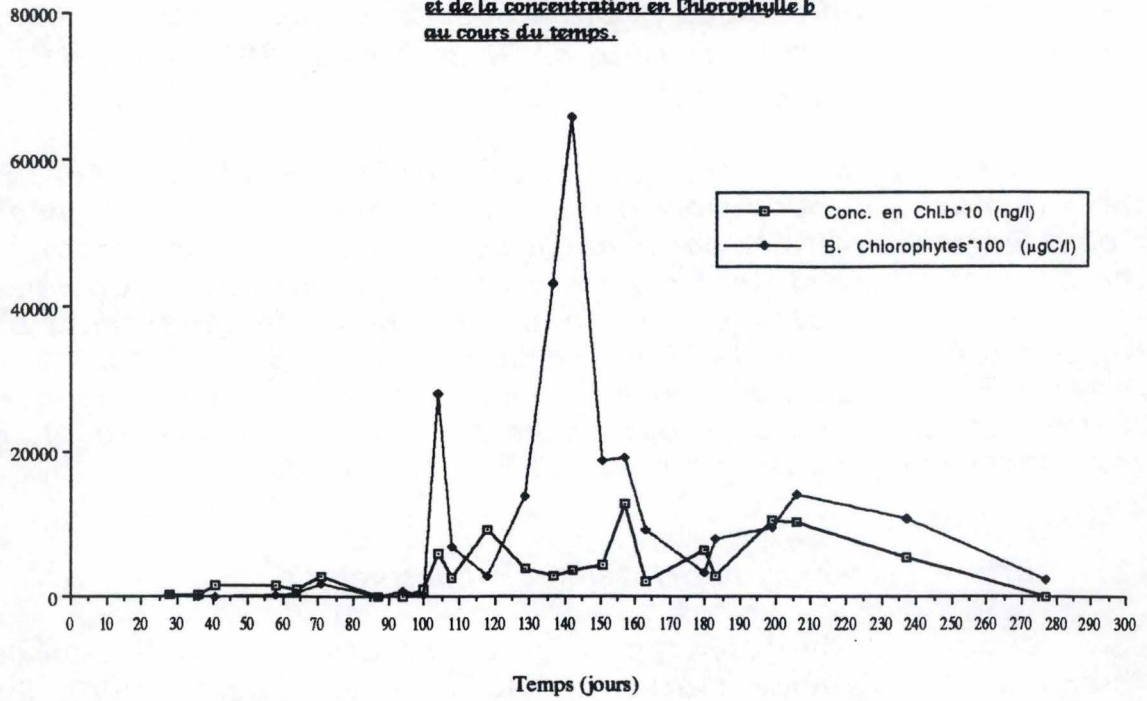
## 2) Relations chlorophylle b/lutéine - algues vertes.

Pour les Chlorophytes, nous avons étudié la variation de biomasse parallèlement à la fluctuation des concentrations des deux pigments : la chlorophylle b et la lutéine (voir fig.4.3.3.a et b, et 4.3.4.a et b). A certaines périodes seulement, ces deux pigments suivent la même évolution que la biomasse des Chlorophytes. En effet ils présentent des concentrations assez faibles pendant tout le mois de mai, alors que la biomasse de Chlorophytes atteint son maximum le 29 de ce mois.

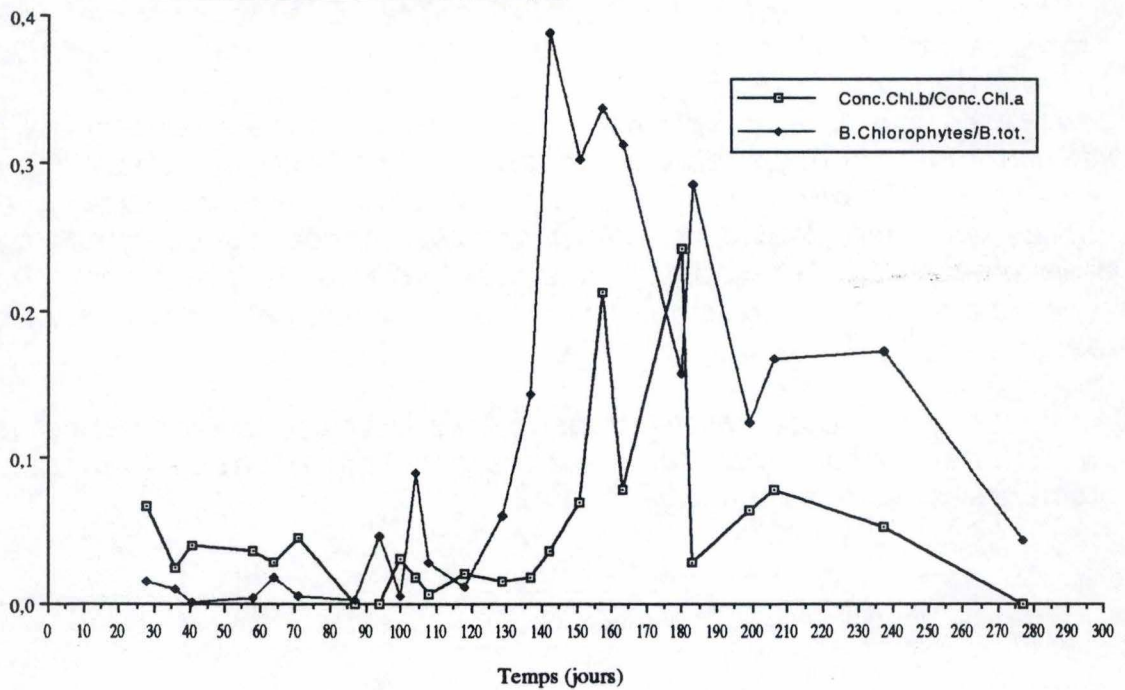
Contrairement à la relation entre la fucoxanthine et la biomasse de Diatomées, il ne semble pas y avoir de relation constante entre le développement des algues vertes et la concentration de leurs pigments caractéristiques. Toutefois, les relations s'améliorent en valeur relative : par exemple (fig.4.3.3. b) le rapport Chl.b/Chl.a évolue, à certaines périodes, en correspondance avec la contribution relative des algues vertes à la biomasse algale. Le rapport lutéine/Chl.a (fig.4.3.4.b) montre une tendance similaire, sans que la correspondance soit parfaite, et de loin.

Le manque de relations peut être attribué à l'influence des conditions environnementales sur les concentrations cellulaires en pigments (voir discussion générale).

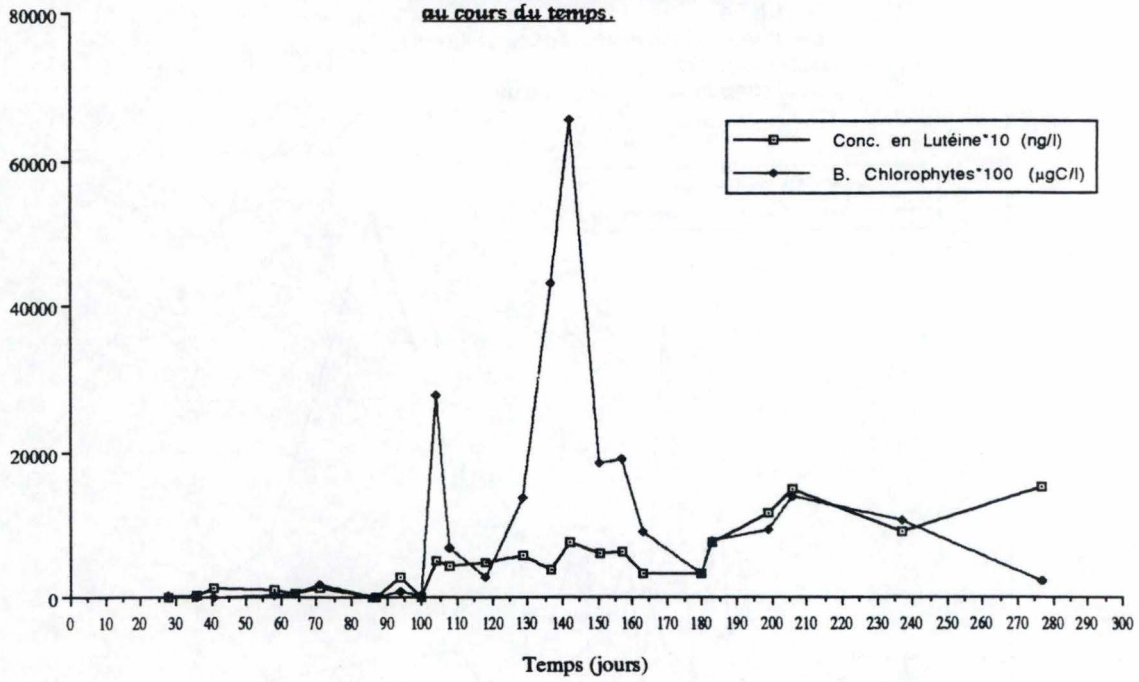
**FIG 4.3.3.a**  
**Evolution de la biomasse de Chlorophytes**  
**et de la concentration en Chlorophylle b**  
**au cours du temps.**



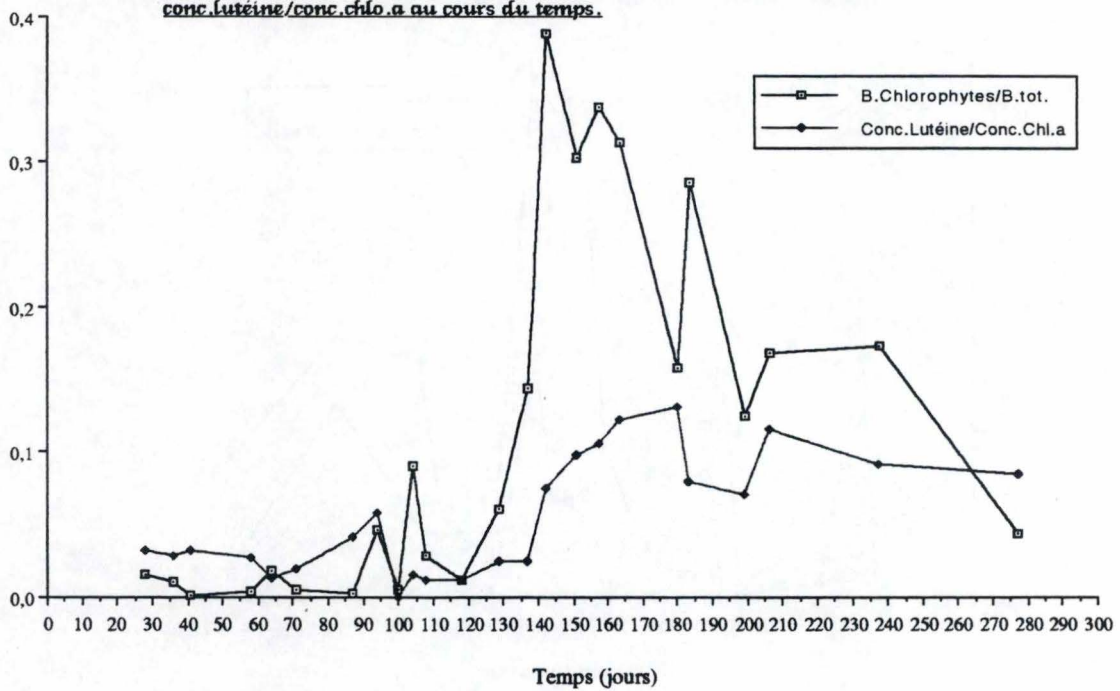
**Fig.4.3.3.b**  
**Evolution du rapport biomasse (B.) Chlorophytes/B.totale et du rapport**  
**conc.chl.b/conc.chl.a au cours du temps.**



**Fig.4.3.4.a**  
**Evolution de la biomasse (B.) de**  
**Chlorophytes et de la conc. en lutéine**  
**au cours du temps.**

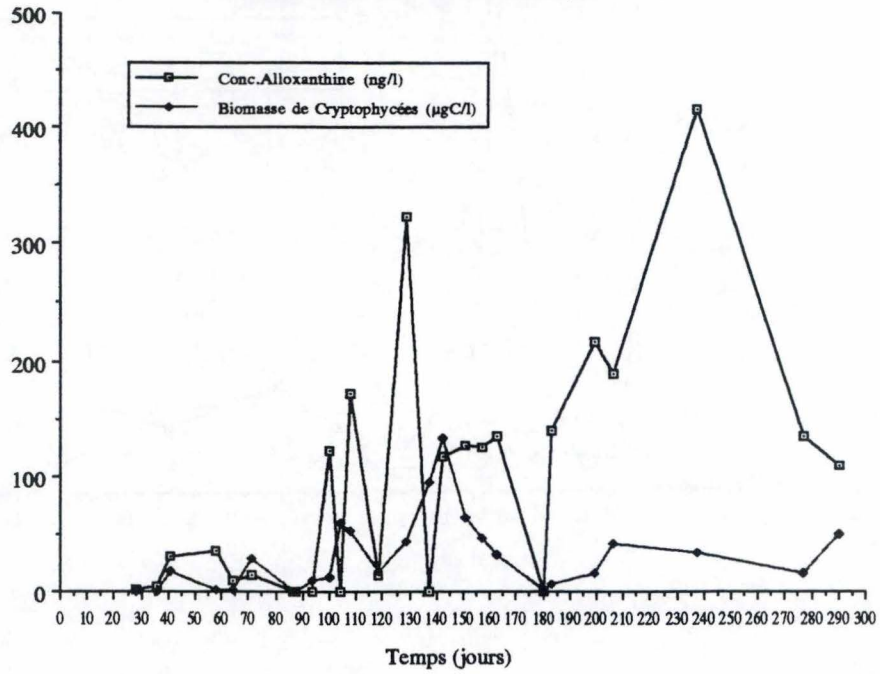


**Fig.4.3.4.b**  
**Evolution du rapport biomasse (B.) Chlorophytes/B.totale**  
**et du rapport conc.lutéine/conc.chlo.a au cours du temps.**

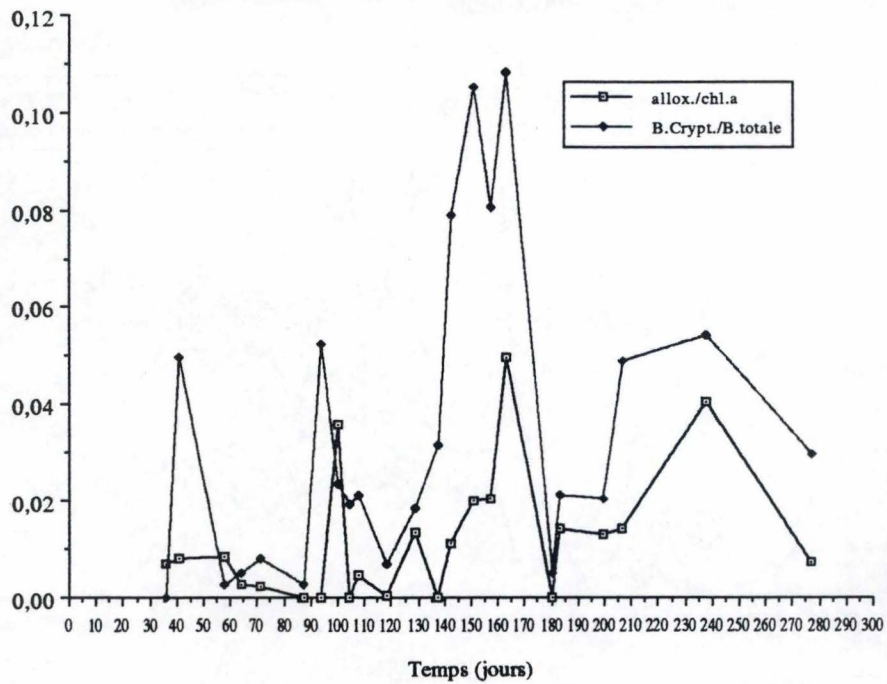




**Fig.4.3.5.a**  
**Evolution de la biomasse de Cryptophycées**  
**et de la concentration**  
**en alloxanthine au cours du temps.**



**Fig.4.3.5.b**  
**Evolution des rapports conc.allox./conc.chl.a et biomasse (B.)**  
**Cryptophycées/biomasse totale au cours du temps.**



### 3) Relation alloxanthine - Cryptophycées.

L'alloxanthine a été utilisée comme référence des fluctuations de biomasses rencontrées au niveau de la classe des Cryptophycées (voir fig.4.3.5.a et b)

Comme pour les algues vertes, la relation est cependant meilleure en valeur relative. En effet, la fig.4.3.5.b illustre une meilleure corrélation entre le rapport alloxanthine/Chl.a et le rapport biomasse des Cryptophycées/biomasse totale qu'entre la concentration en alloxanthine et la biomasse de Cryptophycées.

#### **4. 4. Analyse des résultats en HPLC pour la Meuse Liégeoise.**

Les histogrammes 4.6. et 4.7. illustrent les différences qualitatives et quantitatives dans la composition pigmentaire au niveau de quatre stations de la Meuse Liégeoise.

Lors de l'échantillonnage du mois de mai (fig.4.6.), on a pu observer que les stations d'Ampsin et de Monsin présentent globalement le même profil de distribution des pigments. La station de Fragnée présente une densité algale plus importante, mais une composition pigmentaire semblable aux autres stations. C'est la station d'Argenteau qui présente la plus faible composition pigmentaire. De plus la biomasse phytoplanctonique est très faible dans cette station.

En ce qui concerne les échantillons de septembre et d'octobre, on constate que la station d'Argenteau présente toujours une biomasse algale inférieure à celle observée dans les autres stations. A chaque station, le pigment dominant est la diadinoxanthine. Malheureusement on n'a pas de données quant à la nature du peuplement algal présent à ces quatre stations. Nous pouvons simplement conclure que l'abondance de diadinoxanthine n'est pas le signe que la biomasse algale soit dominée par des Diatomées. En effet, la fucoxanthine voit sa concentration diminuer depuis Ampsin jusque Argenteau, alors que la diadinoxanthine reste le pigment majeur aux trois stations situées en aval d'Ampsin. Comme la diadinoxanthine est aussi présente chez les Dinophycées, on peut émettre l'hypothèse que les Dinophycées représentent une fraction importante du phytoplancton en Meuse Liégeoise cet automne 1992.



**Histogramme 4.7.**  
**Meuse Liégoise (sept.-oct.)**

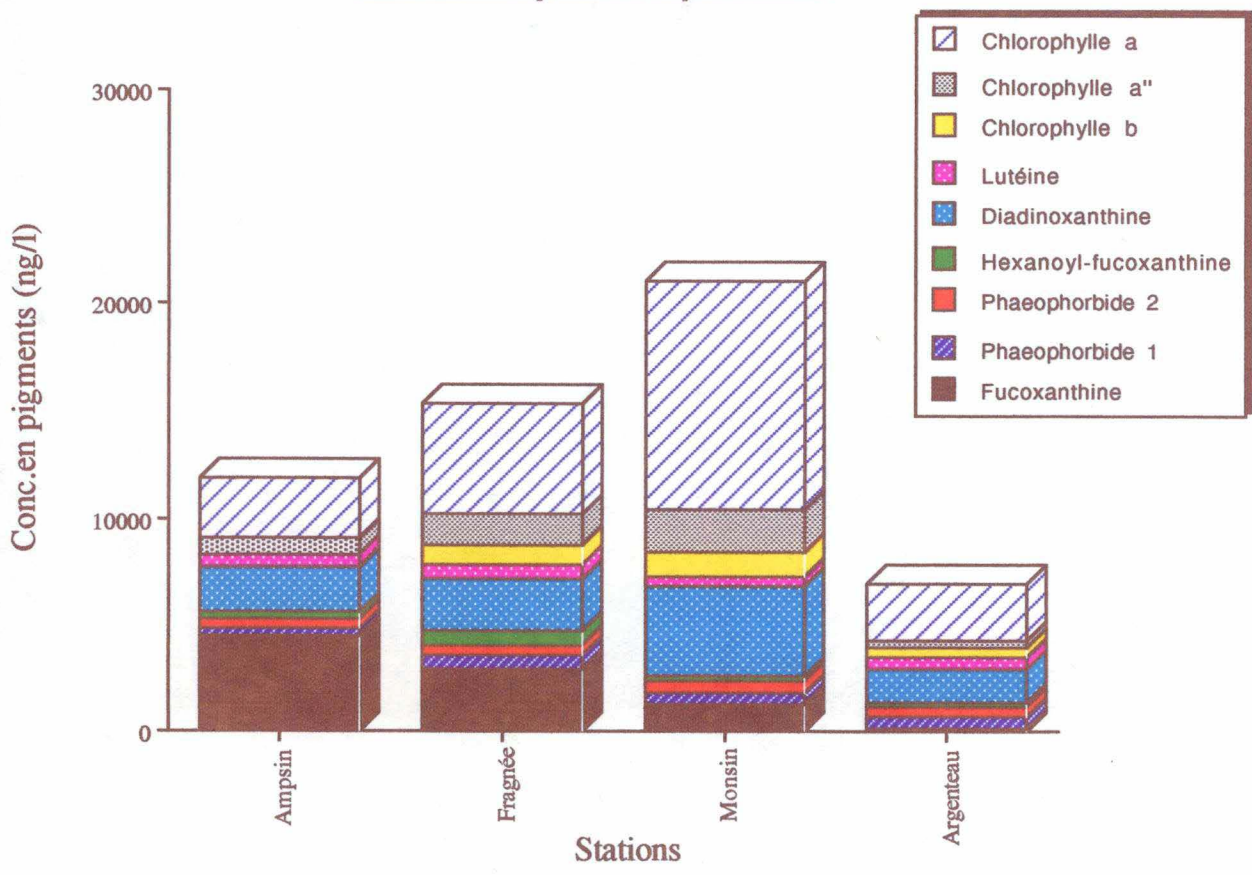


Fig. 4.5.1.a : Activité de grazing de Brachionus calyciflorus en fonction de la biomasse algale

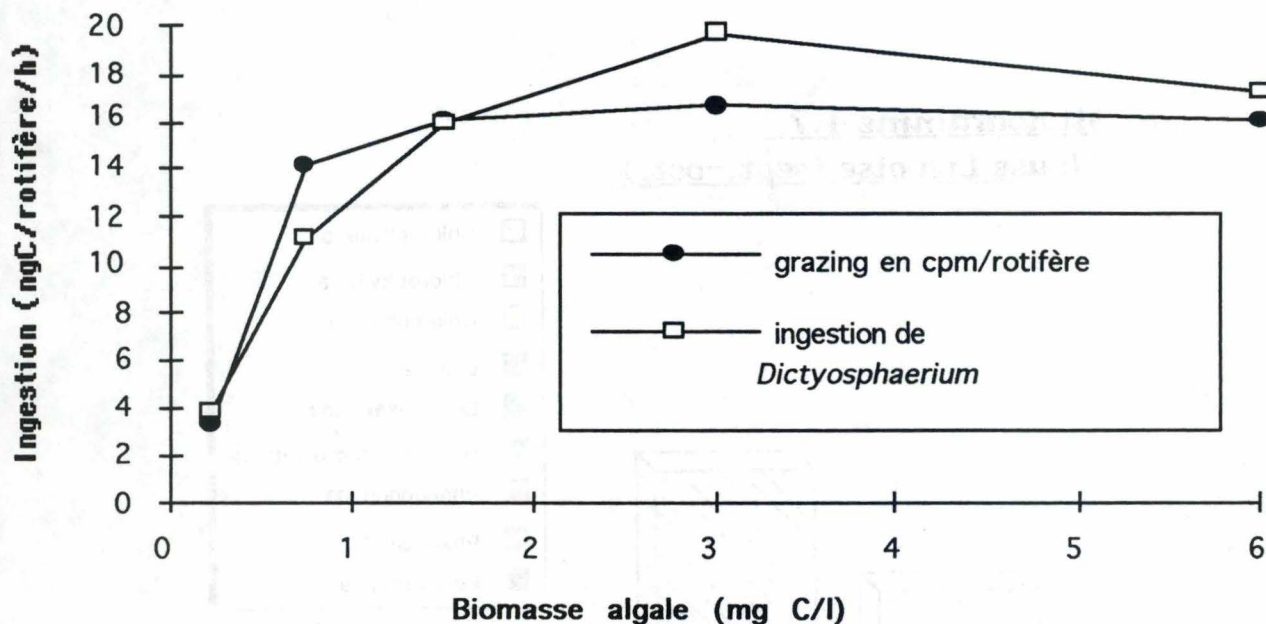
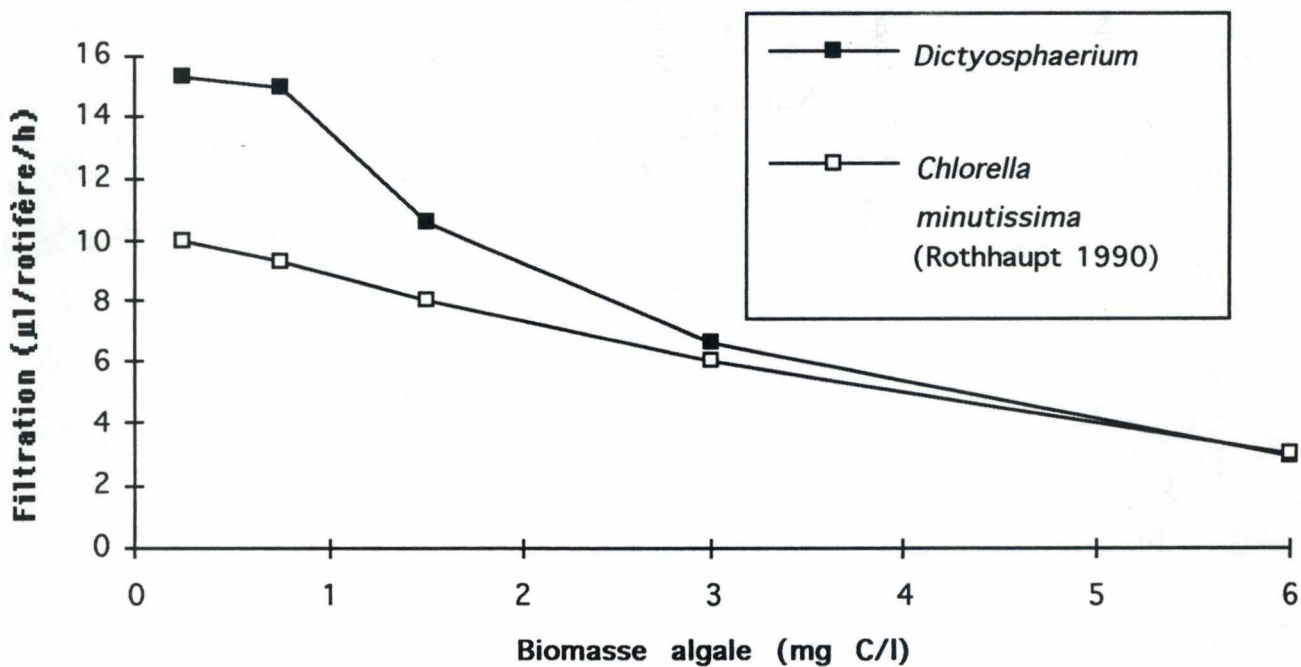


Fig. 4.5.1.b : Activité de grazing par Brachionus calyciflorus en fonction de la biomasse algale.



*-Faute de temps, nous n'avons pas pu réaliser l'expérience complémentaire qui aurait consisté à refaire des incubations similaires avec des algues non radioactives et mesure des pigments dans les rotifères en fin d'expérience.*

#### 4.5. Mesure du taux de grazing du rotifère *Brachionus calyciflorus*.

Nous avons effectué cette mesure dans le but de tester l'utilisation de l'HPLC dans l'étude du grazing. Ceci impliquait une première mise au point de la mesure quantitative du grazing par *Brachionus calyciflorus* grâce à l'utilisation d'algues marquées.

Cette expérience a été réalisée en mettant les rotifères, à une densité constante de 75 individus/ml, en présence de concentrations croissantes (25000-600000 cellules/ml) d'algues marquées au  $^{14}\text{C}$ . L'élevage des rotifères a été mené à l'ULg (Service de Systématique et Ecologie Animale/Unité d'Ecotoxicologie) et les cultures ainsi que le marquage des algues (*Dictyosphaerium ehrenbergianum*) ont été réalisées aux F.U.N.D.P. Les manipulations, dont le détail est décrit au point 3.4.3.2., ont été effectuées en commun par les deux équipes, au laboratoire d'Ecologie des Eaux Douces des F.N.D.P.

Les résultats obtenus sont repris au tableau 4.5.

Tab.4.5. Résultats des expériences de grazing de *Brachionus calyciflorus* utilisant des algues (*Dictyosphaerium ehrenbergianum*) marquées par un radiotracteur.

Conc.algale (mgC/l)	grazing (cpm/rotifère)	rad.algues (cpm/ml)	Ingestion (ngC/rotifère*h)	Filtration ( $\mu\text{l}$ /rotifère*h)
6	16,1	22340	17,3	2,9
3	16,7	10102	19,8	6,6
1,5	16,1	6070	15,9	10,6
0,75	14,1	3771	11,2	15
0,25	3,4	890	3,8	15,3

Les activités de filtration et d'ingestion en fonction de la concentration sont présentées graphiquement aux fig.4.5.1.a et 4.5.1.b. La filtration décroît de façon exponentielle en fonction de la concentration en algues, alors que l'ingestion présente une saturation à partir d'une concentration en algues de 3 mg C/l.

Cette concentration correspond à l'ordre de grandeur de la biomasse algale en Meuse (voir point 4.3.) : ainsi, mise à part la concentration en rotifères nécessairement élevée vu la difficulté de manipuler de petits volumes, les conditions expérimentales sont proches de celles prévalant en Meuse.

Dans la fig.4.5.1.b nous avons comparé nos résultats à ceux obtenus, pour la même espèce de rotifère, par Rothhaupt (1990), dans des conditions expérimentales similaires et avec une souche d'algue verte de taille comparable à celle de la nôtre. On peut constater que la cohérence des résultats est excellente.



DISCUSSION GENERALE

## V. DISCUSSION GENERALE.

En abordant cette étude, nous nous étions fixés deux objectifs. Le premier consistait à savoir si les pigments pouvaient être utilisés comme marqueurs quantitatifs de la biomasse algale, au même titre que la chlorophylle a. Le deuxième objectif consistait en une mise en évidence montrant l'intérêt de l'HPLC pour l'étude de la sélectivité du grazing.

Seul notre premier objectif a été atteint. En raison des problèmes techniques inhérents à la mise au point d'une procédure expérimentale performante, nous n'avons pu mener à bien la seconde partie de notre travail. Cette dernière a été limitée à la réalisation d'expériences, par ailleurs concluantes, utilisant la technique classique avec des algues marquées.

La comparaison des dosages de la chlorophylle a par la méthode traditionnelle (celle de Pechar, 1987), et par l'analyse en HPLC, a révélé que les deux techniques aboutissaient globalement aux mêmes résultats. En ce qui concerne les autres pigments, la méthode des comptages microscopiques nous a permis d'identifier quatre pigments susceptibles de jouer le rôle de biomarqueurs dans l'étude de l'évolution de densités de trois classes phytoplanctoniques. La fucoxanthine permet de suivre quantitativement les fluctuations de biomasse des Diatomées. La chlorophylle b et la lutéine apparaissent plutôt comme de bons biomarqueurs qualitatifs pour les Chlorophytes, tout comme l'alloxanthine pour les Cryptophycées. En effet, ces trois pigments indiquent la présence de classes d'algues déterminées, mais leur concentration n'est pas proportionnelle à leur biomasse. Ce manque de relation peut être attribué à l'influence des conditions environnementales sur les concentrations cellulaires en pigments.

En effet, on sait (Kirk, 1986) que le climat lumineux influence la concentration en pigments dans les cellules algales. La chlorophylle a voit sa concentration cellulaire augmenter lorsque l'intensité de la lumière est faible. L'augmentation de la concentration cellulaire résulte d'un nombre accru d'unités photosynthétiques (PSU). Par exemple, chez *Anacystis nidulans*, il y a un doublement de la concentration en chlorophylle a et des PSU quand l'intensité lumineuse de culture passe de 100 à 10 E.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>. Ce mécanisme constitue une adaptation des algues aux faibles intensités lumineuses.

Si l'on place des algues du genre *Glenodium* (Dinophycée) dans un gradient de lumière de 30 à 2,5 w/m<sup>2</sup>, on remarque que la concentration en chlorophylle a augmente de 80%. La concentration cellulaire du complexe péridinine-chlorophylle a-protéine s'accroît d'un facteur 7.

En ce qui concerne le rapport chlorophylle b/chlorophylle a, il a été établi qu'il augmentait chez certaines algues vertes exposées à une intensité lumineuse réduite.

Chez les algues rouges, c'est la concentration en phycoérythrine qui augmente suite à une diminution de l'intensité lumineuse. L'adaptation se traduit aussi par une augmentation du nombre de phycobilisomes.

Cependant les fluctuations du rapport xanthophylle /chlorophylle a ne varient pas de la même façon pour tous les pigments et toutes les espèces planctoniques. Par exemple, chez des algues brunes marines, on observe une augmentation du rapport chlorophylle c/chlorophylle a si on les transpose à des profondeurs plus faibles (de -12 m à -1 m). Si on les déplace dans l'autre sens (de -1 m à -12 m), ce rapport diminue, alors que le rapport fucoxanthine/chlorophylle a augmente (de 0,50 à 0,77).

Ces modifications répondent non seulement à la diminution d'énergie, mais aussi au changement de composition spectrale. En effet, on a pu observer que, dans une culture de Diatomées (*Stephanopyxis turris*) exposée à une lumière bleu-vert (fraction spectrale dominante en milieu marin), les concentrations en chlorophylles a, c et fucoxanthine sont plus élevées qu'en lumière blanche.

Les variations saisonnières de l'énergie lumineuse moyenne dans l'eau de la Meuse se situent entre 20 à 175  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ . Il n'est pas exclu que, dans ces conditions, des adaptations chromatiques puissent se produire, comme des modifications du rapport fucoxanthine/chlorophylle a chez les Diatomées, ou du rapport chlorophylle a/chlorophylle b chez les algues vertes. On peut supposer que pendant l'été (où l'intensité lumineuse en surface est élevée) le rapport chlorophylle b/chlorophylle a diminue chez les algues vertes, de même que le rapport lutéine/chlorophylle a, tandis que le rapport fucoxanthine/chlorophylle a augmente chez les diatomées.

Les mesures des taux d'ingestion et de filtration de *Brachionus calyciflorus* à partir de monocultures de *Dictyosphaerium ehrenbergianum* ont montré une grande similitude avec les références trouvées dans la littérature, notamment avec celles de Rothhaupt (1990a, b et c).

Maintenant que nous connaissons le taux d'ingestion de *D. ehrenbergianum* (espèce commune en saison estivale) par le rotifère *Brachionus calyciflorus* (abondant dans la Meuse pendant toute la bonne saison), nous pouvons envisager le dosage des pigments algaux dans les rotifères. D'abord pour repérer le type d'algues ingérées, ensuite pour mettre en évidence une éventuelle sélectivité exercée par les animaux.

Cette nouvelle expérience combinerait la mesure du taux de filtration des rotifères via la méthode des radiotraceurs et le dosage des pigments contenus dans ces rotifères par l'HPLC. La technique des radiotraceurs paraît, jusqu' à présent, être la meilleure méthode pour quantifier le grazing, tandis que l'HPLC présente un avenir prometteur pour estimer la sélectivité du grazing. Bien entendu, une mise au point en laboratoire s'impose avant d'envisager une utilisation de l'HPLC dans le cadre d'études *in situ*.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABAYCHI, S. K. & RILEY, J. P., 1979. The determination of phytoplankton pigments by high-performance liquid chromatography. *Analytica Chim. Acta*, 107 : 1-11.

ADRIAN, R., 1991. Filtering and feeding rates of cyclopoid copepods feeding on phytoplankton. *Hydrobiologia*, 210 : 217-223.

A. P. H. A., 1965. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. New York. 769 p.

ARNOLD, D. E., 1971. Ingestion, assimilation, survival and reproduction by *Daphnia pulex* fed seven species of bluegreen algae. *Limnol. Oceanogr.*, 14 : 906-920.

AWAISS, A., 1992. *Eco-physiologie, production en masse et potentialités en pisciculture (larviculture) du Rotifère d'eau douce Brachionus calyciforus (Pallas)*. Thèse de doctorat, Fac. Univ. Notre Dame de la Paix, Namur. 231 p.

BARRS, M. A. & OOSTERHUIS, S. S., 1985. Zooplankton grazing in natural : water with high concentration of <sup>14</sup>C bicarbonate : variable live controls and gut passage time. *Hydrobiol. Bul.*, 19 (1) : 71-80.

BIDIGARE, R. R., KENNICUT, M. C. & BROOKS, J. M., 1985. Rapid determination of chlorophylls and their degradation products by high-performance liquid chromatography. *Limnol. Oceanogr.*, 30 (2) : 432-435.

BOGDAN, K. G., GILBERT, J. J. & STARKWEATHER, P. L., 1980. In situ clearance rates of planktonic rotifers. *Hydrobiologia*, 73 : 73-77.

BORCHARDT, D., 1989. *Erfahrungen mit der Chlorophyllfluometrie bei Messungen zum Stoffhaushalt staugeregelter Fließgewässer*. In : "Grundlagen und Anwendungsbereiche der chlorophyllfluoreszenz", Dortmunder Beiträge zur Wasserforschung, Dortmund. 5-13 p.

BORLEE, M. C., 1988. *Evolution historique récente de la Meuse belge : interventions humaines et modifications de l'écosystème*. Mém. licence, Fac. Univ. Notre Dame de la Paix, Namur. 112 p.

BOURDIER, G., 1991. *Quelques réflexions à propos de l'intérêt des marqueurs organiques en Limnologie*. "Hommage à F. A. Forel" (3è CILEF) In Vernet (éd.), Morges, Suisse. 59-66 p.

BOWLES, N. D., PAERL, H. W. & TUCKER, J., 1985. Effective solvents and extraction periods employed in phytoplankton carotenoid and chlorophyll determinations. *Can. J. Fish. Aquat. Sc.*, 42 : 1127-1131.

BUIKEMA, A. L., 1973. Filtering rate of the Cladoceran, *Daphnia pulex*, as a function of body size, light and acclimatation. *Hydrobiologia*, 4 : 515-527.

BUREAU DU PLAN, 1991. *L'Etat de l'Environnement Wallon, 1991*. Ministère de la Région Wallonne de l'Environnement, des Ressources Naturelles et de l'Agriculture, Bruxelles. 149 p.

BUREAU DU PLAN, 1992. *L'Etat de l'Environnement Wallon, 1992*. Ministère de la Région Wallonne de l'Environnement, des Ressources Naturelles et de l'Agriculture, Bruxelles. 156 p.

BURNS, C. W., 1969. Relation between filtering rate, temperature and body size in four species of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.*, 14 : 693-700.

CHAMP, P. & POURRIOT, R., 1977. Particularités biologiques et écologiques du rotifère *Sinantherina socialis* (Linné). *Hydrobiologie*, 55 : 55-64.

DE CLERCQ-VERSELE, H., KIRCHMANN, R., CANTILLON, G. E., LAMBINON, J., MAISIN, J., MICHA, J. C., MYTTENAERE, C. & SIRONVAL, C., 1982. *L'impact des rejets de la centrale nucléaire de Tihange (Belgique) sur l'écosystème Meuse : cinq années d'étude in situ et d'approche expérimentale (1980-1986)*. BLG 555, Mol. 54 p.

DESCY, J. P., 1987. Phytoplankton composition and dynamics in the river Meuse (Belgium). *Arch. Hydrobiol., Suppl.* 78 (2), *Algological Studies*, 47 : 225-245.

DESCY, J. P. & EMPAIN, A., 1984. *1. Meuse*. In : "Ecology of European Rivers", Oxford Blackwell Sc. Publ., 1-23 p.

DESCY, J. P., EMPAIN, A. & LAMBINON, J., 1982. Un inventaire de la qualité des eaux du bassin wallon de la Meuse (1976-1980). *Trib. Cebedeau*, 463-464 (35) : 267-278.

DESCY, J. P., EVERBECQ, E. & SMITZ, J. S., 1988. Primary production in the river Meuse (Belgium). *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 23 : 1287-1293.

DESCY, J. P., SERVAIS, P., SMITZ, J. S., BILLEN, G. & EVERBECQ, E., 1987. Phytoplankton biomass and production in the river Meuse (Belgium). *Wat. Res.*, 21 : 1557-1566.

EDMONSON, W. T., 1965. Reproduction rate of planktonic rotifers as related to food and temperature in nature. *Ecological Monographs*, 35 : 61-111.

EDMONSON, W. T., 1977. Population dynamics and secondary production. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 8 : 36-64.

FOSS, P., GUILLARD, R. & LIAAEN-JENSENS, S., 1984. Prasinonoxanthin-A chemosystematic marker for algae. *Photochemistry*, 23 : 1629-1633.

FULLER, J. L. & CLARKE, G. L., 1986. Further experiments of the feeding of *Calanus finmarchicus*. *Biological Bulletin*, 70 : 308-320.

GAULD, D. T., 1953. Diurnal variations in the grazing of plankton Copepods. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 31 : 461-474.

GAWLER, M. & ANGELI, N., 1987. Intensité du broutage dans le lac Léman en relation avec la structure de tailles des particules : variations nyctémérales. *Le Naturaliste canadien*, 114 : 1-11.

GAWLER, M., BLANC, P., DRUART, J.-C. & PELLETIER, J.-P., 1986. Dynamique de quelques populations majeures du phytoplancton printanier du Lac Léman en relation avec le broutage et les sels nutritifs. *Univ. Claude Bernard Actes du Coll. Nat. CNRS "Biologie des populations"*, Lyon. 412-419 p.

GAWLER, M. & CHAPUIS, R., 1987. An improved version of the Haney grazing chamber. *Freshwat. Biol.*, 17 :

GOLTERMAN, H. L. & CLYMO, R., 1969. *Methods for chemical analysis of fresh waters*. IBP Hand book Blackwell Sc. Publ., Oxford. 166 p.

GULATI, R. D., 1985. Zooplankton grazing methods using radioactive tracers : technical problems. *Hydrobiol. Bul.*, 19 (1) : 61-69.

HALEN, H. & DESCY, J.-P., 1992. Méthodologie pour l'appréciation de la qualité physico-chimique des eaux de surface. *Tribune de l'eau*, 555 (1) : 61-70.

HANEY, J. F., 1971. An in situ method for the measurement of zooplankton grazing rates. *Limnol. Oceanogr.*, 16 (6) : 970-977.

HANEY, J. F. & HALL, D. J., 1975. Diel vertical migration and filter-feeding activities of *Daphnia*. *Arch. Hydrobiol.*, 75 : 413-441.

HANSSON, L. A., 1992. The role of food chain composition availability in shaping algal biomass development. *Ecology*, 73 (1) : 241-247.



HART, R. C. & CHRISTMAS, G. L., 1975. A twin Gliwicz-Haney in situ zooplankton grazing chamber : design, operation and potential applications. *Journal of Plakton Reseach*, 6 : 715-719.

HECQ, J. H., MAGAZZU, G., GOFFART, A., CATALANO, G., VANUCCI, S. & GUGLIELMO, L., 1991. Distribution of planktonic components related to structure of water masses in the Ross Sea during the Vth italian antarctic expedition. *Associatons Italiana di Oceanologia e Limnologia*, Sous presse :

H. M. S. O., 1981. *Ammonia in Waters, 1981*. In : "Methods for the examination of waters and associated materials", D. O. E. Standing Committee of Analysts, London. 46 p.

H. M. S. O., 1990. *The enumeration of Algae, estimation of cell volume, and use in Bioassays. Methods for the examination of waters and associated materials*. Department of Environment Standing Committee of Analysts, London. 44 p.

HOFMANN, W., 1983. Interactions between *Asplanchna* and *Keratella cochlearis* in the Plubsea (North Germany). *Hydrobiologia*, 104 : 323-365.

HOOKE, C. E. & BIDIGARE, R. R., 1988. Coccoid eukaryotic marine ultraplankters with four different HPLC pigment signature. *J. Phycol.*, 24 : 571-580.

HURLEY, J. P., 1991. Identification of bacteriochlorophylls in lakes via reverse-phase HPLC. *Limnol. Oceanogr.*, 36 (2) : 307-315.

INSTITUT D'HYGIENE et d'EPIDEMIOLOGIE, 1985. *Réseau de mesure de la qualité des eaux superficielles belges en 1984*. Ministère de la Santé Publique et de la Famille, Bruxelles. 401 p.

JACOBSEN, T. R., RAI, H. & NUSCH, E. A., 1988. The measurement of phytoplankton pigments in freshwater : where do we go from here? *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 23 : 952-956.

JEUNIAUX, C., LAMBINON, J., MICHA, J. C., NIHOUL, & WOLLAST, 1984. *Surveillance écologique de la Meuse en aval du site de Tihange*. Ministère de la Région Wallonne pour l'Eau, l'Environnement et la Vie Rurale. 256 p.

JOAQUIM-JUSTO, C., 1992. *Influence du taux de "grazing" sur la dynamique de transfert des PCBs chez une espèce de rotifère zooplanctonique *Brachionus calyciforus* Pallas*. Mém. Licence, non publié, Université de Liège. 55 p.

KING, C. E., 1967. Food, age and the dynamics of a laboratory population of Rotifers. *Ecology*, 48 (1): 111-128.

KIRK, J. T. O., 1983. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge University Press, Cambridge, 401 p.

KIRCHMANN, R., LAMBINON, J., MAISIN, J., MICHA, J.-C., MYTTENAERE, C. & SIRONVAL, C., 1985. *L'impact des rejets de la centrale nucléaire de Tihange (Belgique) sur l'écosystème Meuse : Etudes in situ et recherches expérimentales durant la période 1981-1984*. BLG 573, Mol. 48 p.

LACROIX, G., 1991. *Lacs et rivières : milieux vivants*. Ecoguides Bordas, Baume-les-Dames. 255 p.

LAIR, N., 1991. Comparative grazing activities of the rotifer and crustacean communities in a eutrophic lake. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 24 : 924-927.

LAMPERT, W., 1974. A method for determining food selection by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 19 : 995-998.

LAMPERT, W., 1977. Studies on the carbon balance of *Daphnia pulex* de Geer as related to environmental conditions. I. V. Determination of the "threshold" concentration as a factor controlling the abundance of zooplankton species. *Achiv für Hydrobiologie, Suppl.*, 48 : 361-368.

LAMPERT, W. & SCHÖBER, U., 1980. *The importance of "threshold" food concentration . Evolution and ecology of zooplankton communities*. University Press of New England, Hanover. 264-267 p.

LEE, R. E., 1980. *Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge. 478 p.

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

LORENZEN, C. J. & DOWN, J. N., 1986. The specific absorption coefficients of chlorophyllide *a* and pheophorbide *a* in 90% acetone, and comments on the fluorometric determination of chlorophyll and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.*, 31 (2) : 449-452.

LYNCH, M., 1979. Predation, competition, and zooplankton community structure : an experimental study. *Limnol. Oceanogr.*, 24 (2) : 253-272.

MAC CLATCHIE, S., 1992. Time-series measurement of grazing rates of zooplankton and bivalves. *Journal of Plankton Research*, 14 (2) : 183-200.

MAC CLATCHIE, S., JAQUIERY, P., KAWACHI, R. & PILDITCH, C., 1991. Grazing rates of *Nyctiphanes australis* (Euphausiacea) in the laboratory and Otago Harbour, New Zealand, measured using three independent methods. *Continental Shelf Research*, 11 (1) : 1-22.

MACKAS, D. & BOHRER, R., 1976. Fluorescence analysis of zooplankton gut contents and investigation of diel feeding patterns. *J. Mar. Biol. Ecol.*, 25 : 77-85.

MAC MAHON, J. W. & RIGLER, F. H., 1965. Feeding rate of *Daphnia magma* Straus in different foods labeled with radioactive phosphorus. *Limnol. Oceanogr.*, 10 : 105-113.

MAC QUEEN, D. J., RAST, J. R. & MILL, E. L., 1986. Trophic relationships in freshwater pelagic ecosystems. *Can. J. Fish. Aqu. Sc.*, 43 : 1571-1581.

MAEMETS, A., 1983. Rotifers as indicators of lakes types in Estonia. *Hydrobiologia*, 104 : 357-361.

MANTOURA, R. F. C. & LLEWELLYN, C. A., 1983. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase high performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 151 : 297-314.

MARNEFFE, Y., 1989. *Modalités et voies de transfert de micropolluants organochlorés (PCB) dans le plancton de l'écosystème mosan*. Mém. Licence, Université de Liège. 60 p.

MARNEFFE, Y. & THOME, J. P., 1992. Extraits du rapport F. R. F. C. sur l'étude de la Meuse liégeoise.

MARTIN, J. H., 1970. Phytoplankton-zooplankton relationships in Narraganset Bay. I. V. The seasonal importance of grazing. *Limnol. Oceanogr.*, 15 : 413-418.

MICHA, J. C. & BORLEE, M. C., 1989. Recent historical changes on the Belgian Meuse. In Petts : "Historical changes of large alluvial river : Western Europe", J. Wiley (ed.), p. 269-295.

MONOD, J., 1950. La technique de culture continue. Théorie et application. *Annales de l'Institut Pasteur*, 79 : 380-410.

NAUWERCK, A., 1959. Zur Bestimmung der Filtrierrate Limnischer Planktontiere. *Arch. Hydrobiol. / Suppl.*, 25 : 83-101.

OTSUKI, A. & TAKAMURA, N., 1988. Comparison of chlorophyll *a* concentrations measured by fluorometric HPLC and spectrophotometric methods in highly eutrophic shallow Lake Kasumigaura. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 23 : 944-951.

PEIJFER, B., 1983. Zooplanktic indicators of trophic and their food. *Hydrobiologia*, 101 : 111-114.

PERISSINOTTO, R., 1992. Mesozooplankton size-selectivity and grazing impact on the phytoplankton community of the Prince Edward Archipelago (Southern Ocean). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 79 : 243-258.

PORTER, K. G., 1973. Selective grazing and differential digestion of algae by zooplankton. *Nature*, 244 : 179.

POURRIOT, R., 1965. *Recherche sur l'écologie des Rotifères*. In : "Vie et Milieu", Masson (éd.), Paris. 224 p.

POURRIOT, R., 1977. Food and feeding habits of Rotifera. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, 8 : 243-260.

QUIBLIER, C., BOURDIER, G., AMBLARD, C., PEPIN, D. & COMMUNAL, P. Y., 1991. Intérêt de la séparation des pigments par C. L. H. P. pour l'étude des relations trophiques phyto-zooplankton. In : "Hommage à F. A. Forel" (3è CILEF), Vernet (éd.), Morges, Suisse. 104-107 p.

REYNOLDS, C. S., 1984a. Phytoplankton periodicity : the interaction of form, function and environmental variability. *Freshwater Biol.*, 14 : 111-142.

REYNOLDS, C. S., 1984b. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.

REYNOLDS, C. S., 1988. *Functional morphology and the adaptive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 388-433.

RIWA, 1990. *Rapport annuel '90 - Tome B : La Meuse*. 100 p.

RIWA, 1992. *Campagne Meuse 1991 : Une vue ponctuelle de la qualité des eaux de surface dans le bassin de la Meuse*. Papyro, Amsterdam. 202 p.

RODIER, J., 1975. *L'analyse de l'eau : eau naturelle, eaux résiduaires, eau de mer*. Dunod éd., Paris.

ROTHHAUPT, K. O., 1990a. Population growth rates of two closely related rotifer species : effects of food quantity, particle size, and nutritional quality. *Freshwater Biology*, 23 : 561-570.

ROTHHAUPT, K. O., 1990b. Changes of the functional responses of the rotifers *Brachionus rubens* and *Brachionus calyciforus* with particles sizes. *Limnol. Oceanogr.*, 35 (1) : 24-32.

ROTHHAUPT, K. O., 1990c. Differences in particle size-dependent feeding efficiencies of closely related rotifer species. *Limnol. Oceanogr.*, 35 (1) : 16-23.

RYTHER, J. H., 1954. Inhibitory effects of phytoplankton upon the feeding of *Daphnia magna* with reference to growth, reproduction and survival. *Ecology*, 35 : 522-533.

SANDERSON, R., 1992. *A preliminary study of the zooplankton of the river Meuse*. Master of Science Degree, Univ. of Leicester. 90 p.

SARNELLE, O., 1991. Nutrient enrichment and grazer effects on phytoplankton in lakes. *Ecology*, 73 (2) : 551-560.

SARTORY, D. P., 1985. The determination of algal chlorophyllous pigments by high performance liquid chromatography and spectrophotometry. *Water Res.*, 5 : 605-610.

SCHINDLER, D. W., 1968. Feeding, assimilation and respiration rates of *Daphnia magna* under various environmental conditions and their relation to production estimates. *J. Anim. Ecol.*, 37 : 369-385.

SHUMAN, F. R. & LORENZEN, C. J., 1975. Quantitative degradation of chlorophyll by a marine herbivore. *Limnol. Oceanogr.*, 20 (4) : 580-585.

SOMMER, U., 1985a. Comparison between steady state and not steady state competition : experiments with natural phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 30 : 335-346.

SOMMER, U., 1985b. Seasonal succession of phytoplankton in Lake Constance. *Bioscience*, 35 : 351-357.

STROM, S. L. & WELSCHMEYER, N. A., 1991. Pigment-specific rates of phytoplankton growth and microzooplankton grazing in the open subarctic Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 36 (1) : 50-63.

TACKX, M. L. M. & VAN DE VRIE, E. M., 1985. Calculations of results in grazing experiments using the counting method. *Hydrobiolol. Bul.*, 19 (1) : 29-36.

VANDENBOGAERT, N., 1991. *Etude de l'assimilation des nitrates par une algue planctonique isolée de la Meuse : Dictyosphaerium chlorelloïdes*. Mém. Licence, Fac. Univ. Notre Dame de la Paix Namur. 60 p.

VANNI, M. J. & TEMTE, J., 1990. Seasonal patterns of grazing and nutrient limitation of phytoplankton in a eutrophic lake. *Limnol. Oceanogr.*, 35 (3) : 697-709.

VERNET, M. & LORENZEN, C. J., 1987. The relative abundance of pheophorbide *a* in temperate marine waters. *Limnol. Oceanogr.*, 32 (2) : 352-358.

WELSCHMEYER, N. A., COPPING, A. E., VERNET, M. & LORENZEN, C. J., 1984. Diel fluctuation in zooplankton grazing rate as determined from the downward vertical flux of pheopigments. *Marine Biology*, 83 : 263-270.

WETZEL, W. G. & LIKENS, G. E., 1979. *Limnological analyses*. W. B. Saunders Cy., Philadelphia. 357 p.

WILHEM, C., RUDOLPH, I. & RENNER, W., 1991. A quantitative method based on HPLC - aideal pigment on analysis to monitor structure and dynamics of the phytoplankton assemblage - A study from Lake Meerfelder Maar (Eifel, Germany). *Arch. Hydrobiol.*, 123 (1) : 21-35.

WRIGHT, S. W., JEFFREY, S. W., MANTOURA, R. F. C., LLEWELLYN, C. A., BJORNLAND, T., REPETA, D. & WELSCHMEYER, N., 1991. Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 77 : 183-196.

## Annexe

### 1. Analyse physico-chimiques.

#### 1.1. Mesure de la température, du débit et de l'intensité lumineuse.

Les relevés des mesures de ces paramètres sont exprimées sous forme de deux graphiques (voir figures 4.1 et 4.2.).

1) Evolution de la température et du débit au cours du temps.

2) Evolution de la photopériode et de l'intensité lumineuse au cours du temps.

#### 1.2. Dosage des nutriments dissous

Les résultats des dosages de l'N, du P et de la silice sont repris au tableau 1.

Tab. 1. Dosage des nutriments.

Date	Temps (jours)	Silice(mgSi/l)	Nitrates(mgN/l)	Nitrites(mgN/l)	Ammoniaque(mgN/l)	Phosphates( $\mu$ gP/l)
29-Jan	28	3,22	3,29	0,022	0,16	54,8
5-Fév	36	3	3,2	0,019	0,18	66,4
13-Fév	41	2,46	3,03	0,019	0,13	51,5
4-Mar	58	2,32	3,2	0,011	0,05	28,3
11-Mar	64	0,87	2,91	0,011	0,19	85,6
27-Mar	71	2,9	3,11	0,018	0,07	41
3-Avr	87	2,85	3,03	0,014	0,06	27,3
9-Avr	94	2,32	2,95	0,011	0,03	30,2
13-Avr	100	1,42	2,83	0,007	0,04	11,4
17-Avr	108	0,65	2,71	0,008	0,05	1,7
27-Avr	118	0	2,31	0,01	0,04	0
7-Mai	129	0,11	1,7	0,004	0,03	9,8
15-Mai	137	0,13	1,53	0,009	0,01	17,8
21-Mai	142	0,77	1,49	0,009	0,01	11,2
29-Mai	151	0,15	1,39	0,016	0,22	70,6
5-Jui	157	3,7	1,99	0,019	0,13	73,9
11-Jui	163	4,56	2,21	0,02	0,1	90,4
28-Jui	180	2,82	2,14	0,014	0,09	127,5
1-Jui	183	2,88	1,84	0,011	0,02	93
17-Jui	199	2,71	2,18	0,015	0,04	56
24-Jui	206	2,27	1,86	0,016	0	39
31-Jui	213	1,1	1,72	0,014	0,05	27
22-Aoû	237	2,11	2,37	0,022	0,04	69
3-Oct	277	1,07	2,51	0,007	0,04	31
16-Oct	290	1,88	2,69	0,013	0,08	62

### 1.3. Dosage du C, de l'N et du P particulaires

Le tableau 2. reprend les résultats des dosages du C, de l'N et du P particulaires.

Tab.2. Dosage de l'N, du C et du P particulaires.

Date	Temps (jours)	Conc.azote ( $\mu\text{gN/l}$ )	Conc.carbone ( $\mu\text{gC/l}$ )	Conc. phosphore particulaire ( $\mu\text{gP/l}$ )	Conc.Chl.a( $\mu\text{g/l}$ )
5-Fév	36	100,8	893,6	14,8	6,3
13-Fév	41	114,8	920,7	15,3	8,0
27-Fév	58	103,5	1067,7	13,3	6,5
4-Mar	64	147,9	1044,7	17,4	13,5
11-Mar	71	357,7	2438,2	28,5	46,4
27-Mar	87	93,1	812,5	9,3	8,5
3-Avr	94	104,2	762,3	9,2	7,2
9-Avr	100	106,8	700,3	21,5	8,2
17-Avr	108	342,4	2425,9	25,9	39,0
27-Avr	118	416,9	2887,5	32,9	61,0
7-Mai	129	409,9	2793,9	31,3	48,4
15-Mai	137	328,9	2079,3	31,5	33,8
21-Mai	142	216,1	1211,6	24	28,1
29-Mai	151	137,1	415,1	6,3	7,5
5-Jui	157	182,0	672,2	15,2	12,8
11-Jui	163	115,6	889,6	10	7,5
28-Jui	180	102,1	530,0	9,5	6,3
1-Jui	183	159,1	737,8	3,5	14,8
17-Jui	199	181,7	1383,3	13,6	16,3
24-Jui	206	137,3	1501,5	7,7	21,1
31-Jui	213	157,8	800,2	8,9	14,0
22-Aoû	237	95,0	532,0	4,9	10,1
3-Oct	277	80,2	846,3	3,9	16,1



## **2. Biomasse et composition phytoplanctonique**

### 2.1. Dosage de la Chl.a par spectrophotométrie à 665 nm

Les résultats de ces dosages sont repris avec le dosage du C, de l'N et du P particuliers au tableau .2. Pour plus de facilité, nous référons à ces résultats dans la suite du texte sous forme de "Chl.a Pechar".

### 2.2. Composition phytoplanctonique

Le tableau 3 reprend toutes les densités (nombre d'unités/ml) des différents taxons algales répertoriés à chaque échantillonnage.

### 2.3. Calculs de biomasses algales à partir des densités

Les résultats des calculs de biomasses sont repris au tableau .4.

A partir des biovolumes de chaque catégorie d'algues, nous avons calculés la biomasse (en  $\mu\text{g C/l}$ ) de trois façons différentes :

- 1) d'après Strathman (1967, in HMSO 1990) ;
- 2) d'après Mullin et al (1966, in HMSO 1990) ;
- 3) d'après Eppley et Taguche (1970 et 1976, in HMSO 1990).

Des trois formules de quantification proposées, nous retiendrons celle de Strathman, car elle permet de calculer, avec un meilleure précision, la biomasse des différentes classes d'algues.

Tab.3. Abondance des différentes classes d'algues

PHYTOPLANKTON DE LA MEUSE - 1992 ( nombre d'unites par ml )	28-Jan	05-Fév	13-Fév	27-Fév	04-Mar	11-Mar
TAXONS						
CHLOROPHYTES	43	11	11	20	37	795
Actinastrum hantzschii						
Ankistrodesmus falcatus						
Chlamydomonas sp.	1	1				
Chlorella vulgaris						
Closteriopsis longissima						
Closterium sp.						
Coelastrum microporum	1				1	
Coelastrum microporum (petites col.)						790
Cosmarium sp.						
Crucigenia quadrata						
Crucigenia rectangularis						
Crucigenia tetrapedia						
Dictyosphaerium ehrenbergianum	1					
Dictyosphaerium pulchellum						
Didymocystis bicellularis						
Keratococcus suecicus						
Kirchneriella div. sp.						
Lagerheimia cf. balatonica						
Lagerheimia genevensis (=L. quadriseta)						1
Monoraphidium arcuatum			5			1
Monoraphidium contortum	10	5		1		1
Monoraphidium komarkovae	1	5	5	1		
Monoraphidium minutum						
Monoraphidium tortile	1					
Oocystis sp.						
Pediastrum boryanum						
Pediastrum duplex						
Pediastrum tetras						
Scenedesmus acuminatus						
Scenedesmus acutus						
Scenedesmus armatus et var.	1			1		1
Scenedesmus bicaudatus			1			
Scenedesmus intermedius et var.				1		
Scenedesmus opoliensis				1	1	1
Scenedesmus protuberans						
Scenedesmus quadricauda	1					
Scenedesmus longispina	1					
Scenedesmus magnus						
Scenedesmus spinosus	15					
Scenedesmus div. sp.						
Tetraedron caudatum						
Tetraedron regulare						
Tetraedron trigonum						
Tetrastrum cf. glabrum						
Tetrastrum staurogeniaeforme						
Westella botryoides						
Chlorococcales non identifiées	10			15	35	
CHRYSTOPHYCEES ET XANTHOPHYCEES	0	0	15	0	0	1
Dinobryon cf. sociale						1
Synura sp.						
Non identifiées			15		10	
DIATOMÉES	1073	393	1275	5589	1321	33334
Achnanthes div. sp.						
Amphora ovalis			5			
Asterionella formosa	15	1	15	15	1	1

Centriques (ensemble)	990	365	850	5455	1205	32040
Cymbella minuta		5				
Cymbella div. sp.				1		
Diatoma tenue var. elongatum						
Diatoma vulgare				5		85
Fragilaria div. sp.						
Gomphonema div. sp.				5		
Gyrosigma div. sp.	1					
Aulacoseira ambigua	50	1	130	1	10	1
Aulacoseira granulata					1	
Aulacoseira granulata var. angustissima	1					
Melosira varians		5	5			
Navicula lanceolata					1	250
Navicula gr. lineolatae	1		60	30		40
Navicula tripunctata	1				1	1
Nitzschia acicularis	10	5	60	25	15	540
Nitzschia fruticosa						
Nitzschia linearis			15	1		
Nitzschia palea						
Nitzschia vermicularis						
Nitzschia div. sp.	1	10	45	25	15	40
Rhoicosphenia abbreviata	1			5	1	
Skeletonema potamos						
Skeletonema subsalsum						
Surirella div. sp.			65	15	35	85
Synedra acus et var.	1	1		5	10	210
Synedra ulna et var.			25	1	1	40
Synedra div. sp.						
Tabellaria fenestrata	1				25	1
-----						
CYANOPHYCEES	3	1	10	3	10	82
-----						
Anabaena sp.						
Chroococcus minutus et C. dispersus						40
Lyngbya contorta						
Lyngbya limnetica			5			1
Lyngbya div. sp.	1					
Microcystis sp.						
Oscillatoria agardhii				1		
Oscillatoria limnetica	1				10	
Oscillatoria planctonica		1	5	1		40
Oscillatoria cf. tenuis						
Oscillatoria sp.	1					
Pseudanabaena catenata				1		1
-----						
EUGLENOPHYCEES	11	0	0	5	1	0
-----						
Euglena div. sp.	1				1	
Lepocinclis ovum						
Phacus div. sp.				5		
Trachelomonas sp.	10					
-----						
CRYPTOPHYCEES	0	0	50	56	11	336
-----						
Chroomonas acuta						210
Chroomonas cf. norstedtii			30	55	10	85
Cryptomonas ovata			20		1	1
Cryptomonas div. sp.				1		40
-----						
DINOPHYCEES	1	0	1	0	0	0
-----						
Peridinium div. sp.			1			
Gymnodinium sp.	1					
-----						
TOTAL	1130	405	1361	5673	1380	34548

PHYTOPLANKTON DE LA MEUSE - 1992 ( nombre d'unites par ml )	27-Mar	03-Avr	09-Avr	13-Avr	17-Avr	27-Avr
TAXONS						
<b>CHLOROPHYTES</b>	<b>16</b>	<b>74</b>	<b>19</b>	<b>775</b>	<b>301</b>	<b>141</b>
Actinastrum hantzschii						
Ankistrodesmus falcatus						
Chlamydomonas sp.				205		
Chlorella vulgaris					30	
Closteriopsis longissima						
Closterium sp.						
Coelastrum microporum						
Coelastrum microporum (petites col.)				410	90	35
Cosmarium sp.		1				
Crucigenia quadrata						
Crucigenia rectangularis						
Crucigenia tetrapedia						
Dictyosphaerium ehrenbergianum						
Dictyosphaerium pulchellum						
Didymocystis bicellularis						
Keratococcus suecicus						
Kirchneriella div. sp.						
Lagerheimia cf. balatonica				40		
Lagerheimia genevensis (=L. quadriseta)						
Monoraphidium arcuatum			1			35
Monoraphidium contortum	15					35
Monoraphidium komarkovae	1	1	1			
Monoraphidium minutum						
Monoraphidium tortile				40		
Oocystis sp.						
Pediastrum boryanum			15			
Pediastrum duplex						
Pediastrum tetras						
Scenedesmus acuminatus		1			1	
Scenedesmus acutus			1			
Scenedesmus armatus et var.		1			120	
Scenedesmus bicaudatus				40		
Scenedesmus intermedius et var.					60	
Scenedesmus opoliensis						
Scenedesmus protuberans						
Scenedesmus quadricauda			1			
Scenedesmus longispina						1
Scenedesmus magnus						
Scenedesmus spinosus		20		40		35
Scenedesmus div. sp.		30				
Tetraedron caudatum						
Tetraedron regulare						
Tetraedron trigonum						
Tetrastrum cf. glabrum						
Tetrastrum staurogeniaeforme						
Westella botryoides						
Chlorococcales non identifiees		20				
<b>CHRYSOPHYCEES ET XANTHOPHYCEES</b>	<b>55</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>40</b>	<b>30</b>	<b>105</b>
Dinobryon cf. sociale	15		15	40	30	35
Synura sp.						
Non identifiees	40					70
<b>DIATOMEES</b>	<b>833</b>	<b>762</b>	<b>3412</b>	<b>30259</b>	<b>23626</b>	<b>25000</b>
Achnanthes div. sp.						
Amphora ovalis						
Asterionella formosa	1	10	15	1	30	35

Centriques (ensemble)	600	520	2920	28905	22595	23055
Cymbella minuta		20				
Cymbella div. sp.			1			
Diatoma tenue var. elongatum						
Diatoma vulgare		1	1		60	
Fragilaria div. sp.						
Gomphonema div. sp.	25	10	15			
Gyrosigma div. sp.			1			
Aulacoseira ambigua	120	85	205	1	30	140
Aulacoseira granulata						
Aulacoseira granulata var. angustissima						
Melosira varians					1	
Navicula lanceolata	1	1	1		90	
Navicula gr. lineolatae	15	10				
Navicula tripunctata	1	1	1	40	1	
Nitzschia acicularis		60	135	1310	605	1630
Nitzschia fruticosa						
Nitzschia linearis		1			30	35
Nitzschia palea		10				
Nitzschia vermicularis	15	1				
Nitzschia div. sp.	25	20	100		90	
Rhoicosphenia abbreviata		10				
Skeletonema potamos				1	90	70
Skeletonema subsalsum						
Surirella div. sp.	15		1			
Synedra acus et var.			1	1	1	
Synedra ulna et var.		1			1	35
Synedra div. sp.					1	
Tabellaria fenestrata	15	1	15		1	
<b>CYANOPHYCEES</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>15</b>	<b>81</b>	<b>132</b>	<b>0</b>
Anabaena sp.						
Chroococcus minutus et C. dispersus				80	130	
Lyngbya contorta						
Lyngbya limnetica			15			
Lyngbya div. sp.						
Microcystis sp.					1	
Oscillatoria agardhii						
Oscillatoria limnetica	15	20			1	
Oscillatoria planctonica		10		1		
Oscillatoria cf. tenuis						
Oscillatoria sp.						
Pseudanabaena catenata						
<b>EUGLENOPHYCEES</b>	<b>0</b>	<b>11</b>	<b>1</b>	<b>125</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
Euglena div. sp.			1	125	1	
Lepocinclis ovum						
Phacus div. sp.		10				
Trachelomonas sp.		1				
<b>CRYPTOPHYCEES</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>15</b>	<b>365</b>	<b>540</b>	<b>607</b>
Chroomonas acuta		10		40	300	320
Chroomonas cf. norstedtii	15	10		245	180	285
Cryptomonas ovata		10	15	80	60	1
Cryptomonas div. sp.						1
<b>DINOPHYCEES</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Peridinium div. sp.						
Gymnodinium sp.						
<b>TOTAL</b>	<b>934</b>	<b>907</b>	<b>3477</b>	<b>31645</b>	<b>24630</b>	<b>25853</b>

PHYTOPLANKTON DE LA MEUSE - 1992 ( nombre d'unités par ml )						
	07-Mai	15-Mai	21-Mai	29-Mai	05-Jui	11-Jui
<b>TAXONS</b>						
<b>CHLOROPHYTES</b>						
	1050	4282	10673	2237	2523	1222
<i>Actinastrum hantzschii</i>		65	6340	135	1	1
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>						
<i>Chlamydomonas</i> sp.	1					
<i>Chlorella vulgaris</i>	490	715	105	55	115	25
<i>Closteriopsis longissima</i>						
<i>Closterium</i> sp.					1	
<i>Coelastrum microporum</i>		940	285	10	65	
<i>Coelastrum microporum</i> (petites col.)	205	270	575	90	90	10
<i>Cosmarium</i> sp.					1	1
<i>Crucigenia quadrata</i>						10
<i>Crucigenia rectangularis</i>			1		1	10
<i>Crucigenia tetrapedia</i>					1	
<i>Dictyosphaerium ehrenbergianum</i>			360	310	315	90
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>					100	55
<i>Didymocystis bicellularis</i>				90	75	35
<i>Keratococcus suecicus</i>			35			
<i>Kirchneriella</i> div. sp.				65		
<i>Lagerheimia</i> cf. <i>balatonica</i>						
<i>Lagerheimia genevensis</i> (=L. <i>quadrisseta</i> )		35	35	35	25	10
<i>Monoraphidium arcuatum</i>			35	20	25	
<i>Monoraphidium contortum</i>	1	335	360	20	25	55
<i>Monoraphidium komarkovae</i>			1	55	15	1
<i>Monoraphidium minutum</i>	1	335	360	77	40	10
<i>Monoraphidium tortile</i>		235			50	10
<i>Oocystis</i> sp.			70	135	65	45
<i>Pediastrum boryanum</i>			145	122	1	150
<i>Pediastrum duplex</i>				400	550	365
<i>Pediastrum tetras</i>				175		
<i>Scenedesmus acuminatus</i>		1	285	45	1	1
<i>Scenedesmus acutus</i>	1	810	145		90	
<i>Scenedesmus armatus</i> et var.	1					1
<i>Scenedesmus bicaudatus</i>				10		1
<i>Scenedesmus intermedius</i> et var.	200			20	15	
<i>Scenedesmus opoliensis</i>			70	10	50	1
<i>Scenedesmus protuberans</i>				1		
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	100	135	1000	15	190	45
<i>Scenedesmus longispina</i>		135	145		160	
<i>Scenedesmus magnus</i>				90	1	25
<i>Scenedesmus spinosus</i>	50	1	35	10	40	10
<i>Scenedesmus</i> div. sp.		135		122	200	55
<i>Tetraedron caudatum</i>				20	25	
<i>Tetraedron regulare</i>			1		15	35
<i>Tetraedron trigonum</i>				45		10
<i>Tetrastrum</i> cf. <i>glabrum</i>						10
<i>Tetrastrum staurogeniaeforme</i>				10		10
<i>Westella botryoides</i>				10	15	10
Chlorococcales non identifiées		135	285	35	160	125
<b>CHRYSOPHYCEES ET XANTHOPHYCEES</b>						
	1	0	35	20	30	0
<i>Dinobryon</i> cf. <i>soziale</i>	1		35	10	15	
<i>Synura</i> sp.						
Non identifiées				10	15	
<b>DIATOMEES</b>						
	20830	24460	6437	398	1060	725
<i>Achnanthes</i> div. sp.						
<i>Amphora ovalis</i>						
<i>Asterionella formosa</i>						

Centriques (ensemble)	19990	23480	6400	375	850	560
Cymbella minuta						
Cymbella div. sp.						
Diatoma tenue var. elongatum	50	35				
Diatoma vulgare					15	
Fragilaria div. sp.						
Gomphonema div. sp.						
Gyrosigma div. sp.						
Aulacoseira ambigua		270	1	1	100	125
Aulacoseira granulata				1		
Aulacoseira granulata var. angustissima						
Melosira varians				1	25	
Navicula lanceolata					1	
Navicula gr. lineolatae						10
Navicula tripunctata						
Nitzschia acicularis	790	540	35	10	15	10
Nitzschia fruticosa						
Nitzschia linearis					1	
Nitzschia palea					1	
Nitzschia vermicularis						
Nitzschia div. sp.				10		10
Rhoicosphenia abbreviata						
Skeletonema potamos						
Skeletonema subsalsum						
Surirella div. sp.						
Synedra acus et var.					1	10
Synedra ulna et var.					1	
Synedra div. sp.					50	
Tabellaria fenestrata		135	1			
<b>CYANOPHYCEES</b>	<b>400</b>	<b>336</b>	<b>140</b>	<b>55</b>	<b>77</b>	<b>21</b>
Anabaena sp.						
Chroococcus minutus et C. dispersus	100	100	105	55	75	10
Lyngbya contorta						
Lyngbya limnetica						
Lyngbya div. sp.		1				1
Microcystis sp.						
Oscillatoria agardhii					1	
Oscillatoria limnetica	50	235	35			
Oscillatoria planctonica					1	
Oscillatoria cf. tenuis						
Oscillatoria sp.	50					
Pseudanabaena catenata						10
<b>EUGLENOPHYCEES</b>	<b>0</b>	<b>35</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>13</b>
Euglena div. sp.		35	1		+	13
Lepocinclis ovum						
Phacus div. sp.						
Trachelomonas sp.						
<b>CRYPTOPHYCEES</b>	<b>350</b>	<b>575</b>	<b>361</b>	<b>440</b>	<b>441</b>	<b>675</b>
Chroomonas acuta	200	270	145	300	315	620
Chroomonas cf. norstedtii	100	170		20	50	35
Cryptomonas ovata	50	135	215	10	1	10
Cryptomonas div. sp.			1	110	75	10
<b>DINOPHYCEES</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>55</b>	<b>30</b>	<b>0</b>
Peridinium div. sp.			1	55	15	
Gymnodinium sp.					15	
<b>TOTAL</b>	<b>22631</b>	<b>29688</b>	<b>17647</b>	<b>3150</b>	<b>4131</b>	<b>2656</b>

PHYTOPLANKTON DE LA MEUSE - 1992						
( nombre d'unités par ml )						
	28-Jui	01-Jui	17-Jui	24-Jui	22-Aoû	03-Oct
TAXONS						
-----						
CHLOROPHYTES	562	2401	1863	2297	1689	542
-----						
<i>Actinastrum hantzschii</i>		25	10	65	85	260
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>			1		10	
<i>Chlamydomonas</i> sp.		35			1	
<i>Chlorella vulgaris</i>	10	25	10			
<i>Closteriopsis longissima</i>		1			1	
<i>Closterium</i> sp.		1		1		
<i>Coelastrum microporum</i>		1	70		10	1
<i>Coelastrum microporum</i> (petites col.)		1	25	15	20	1
<i>Cosmarium</i> sp.	1	1				
<i>Crucigenia quadrata</i>					10	
<i>Crucigenia rectangularis</i>	1		1	135		
<i>Crucigenia tetrapedia</i>			95	1		
<i>Dictyosphaerium ehrenbergianum</i>	75	1945	935	530	425	20
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>		1				
<i>Didymocystis bicellularis</i>			10	35	4	
<i>Keratococcus suecicus</i>		25			1	
<i>Kirchneriella</i> div. sp.						
<i>Lagerheimia</i> cf. <i>balatonica</i>						
<i>Lagerheimia genevensis</i> (=L. <i>quadriseta</i> )					10	10
<i>Monoraphidium arcuatum</i>		1	1	1		1
<i>Monoraphidium contortum</i>	10			35	1	30
<i>Monoraphidium komarkovae</i>						10
<i>Monoraphidium minutum</i>		10	50	15		
<i>Monoraphidium tortile</i>			10			1
<i>Oocystis</i> sp.		10	1	65	40	1
<i>Pediastrum boryanum</i>	1	1	1		290	1
<i>Pediastrum duplex</i>	20	10	10	765	1	1
<i>Pediastrum tetras</i>	1	1	60		1	
<i>Scenedesmus acuminatus</i>		1	10	1	1	
<i>Scenedesmus acutus</i>		10	1	1	60	
<i>Scenedesmus armatus</i> et var.				65		
<i>Scenedesmus bicaudatus</i>	1	1	145	1	1	45
<i>Scenedesmus intermedius</i> et var.	135	35	120			65
<i>Scenedesmus opoliensis</i>	1	1	1		1	1
<i>Scenedesmus protuberans</i>						
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	45	70		1	85	
<i>Scenedesmus longispina</i>		1	50	135	40	1
<i>Scenedesmus magnus</i>	1	1	1	35	1	1
<i>Scenedesmus spinosus</i>			1	65	40	90
<i>Scenedesmus</i> div. sp.	175	140	145	265	270	1
<i>Tetraedron caudatum</i>	10		1		10	
<i>Tetraedron regulare</i>			1		20	
<i>Tetraedron trigonum</i>	10	1	1			
<i>Tetrastrum</i> cf. <i>glabrum</i>	10	10	10	65		
<i>Tetrastrum staurogeniaeforme</i>						
<i>Westella botryoides</i>	45	1	1		125	1
Chlorococcales non identifiées	10	35	85		125	
-----						
CHRYSTOPHYCEES ET XANTHOPHYCEES	0	0	0	0	10	0
-----						
<i>Dinobryon</i> cf. <i>socialis</i>						
<i>Synura</i> sp.					10	
Non identifiées						
-----						
DIATOMEES	442	526	721	2462	1053	1292
-----						
<i>Achnanthes</i> div. sp.					10	
<i>Amphora ovalis</i>						
<i>Asterionella formosa</i>		1				



Centriques (ensemble)	230	260	570	1630	220	1065
Cymbella minuta						
Cymbella div. sp.						
Diatoma tenue var. elongatum						10
Diatoma vulgare				1		30
Fragilaria div. sp.						10
Gomphonema div. sp.						
Gyrosigma div. sp.						
Aulacoseira ambigua	145	130	1	250	330	1
Aulacoseira granulata		1	60	1	70	30
Aulacoseira granulata var. angustissima		1	1	1	1	
Melosira varians	35	35	1			1
Navicula lanceolata						
Navicula gr. lineolatae					10	
Navicula tripunctata				1		
Nitzschia acicularis	10	1	1	1		10
Nitzschia fruticosa	1			15	1	
Nitzschia linearis					1	
Nitzschia palea						1
Nitzschia vermicularis						1
Nitzschia div. sp.	10	1	35	15	10	
Rhoicosphenia abbreviata		10		15		
Skeletonema potamos		25		530	350	90
Skeletonema subsalsum		25			20	1
Surirella div. sp.	10	10	50		10	30
Synedra acus et var.	1	25	1	1	20	10
Synedra ulna et var.			1	1		1
Synedra div. sp.						1
Tabellaria fenestrata		1				
-----						
CYANOPHYCEES	35	30	46	47	33	233
-----						
Anabaena sp.			10		20	220
Chroococcus minutus et C. dispersus	35	10	35	15	10	1
Lyngbya contorta						
Lyngbya limnetica						
Lyngbya div. sp.		20				
Microcystis sp.					1	
Oscillatoria agardhii					1	1
Oscillatoria limnetica				1		10
Oscillatoria planctonica				15		
Oscillatoria cf. tenuis				1		1
Oscillatoria sp.						
Pseudanabaena catenata			1	15	1	
-----						
EUGLENOPHYCEES	0	10	0	30	1	1
-----						
Euglena div. sp.		10		15		
Lepocinclis ovum				15		
Phacus div. sp.						1
Trachelomonas sp.					1	
-----						
CRYPTOPHYCEES	20	131	131	280	280	451
-----						
Chroomonas acuta	20	130	110	215	230	450
Chroomonas cf. norstedtii						
Cryptomonas ovata			1	15	10	
Cryptomonas div. sp.		1	20	50	40	1
-----						
DINOPHYCEES	10	10	110	65	60	0
-----						
Peridinium div. sp.	10	10	110	65	60	
Gymnodinium sp.						
-----						
TOTAL	1059	3098	2761	5116	3066	2519

PHYTOPLANKTON DE LA MEUSE - 1992	
( nombre d'unites par ml )	
	16-Oct
TAXONS	
CHLOROPHYTES	
	349
Actinastrum hantzschii	
Ankistrodesmus falcatus	
Chlamydomonas sp.	10
Chlorella vulgaris	
Closteriopsis longissima	
Closterium sp.	1
Coelastrum microporum	
Coelastrum microporum (petites col.)	
Cosmarium sp.	
Crucigenia quadrata	10
Crucigenia rectangularis	
Crucigenia tetrapedia	
Dictyosphaerium ehrenbergianum	
Dictyosphaerium pulchellum	
Didymocystis bicellularis	
Keratococcus suecicus	
Kirchneriella div. sp.	
Lagerheimia cf. balatonica	
Lagerheimia genevensis (=L. quadriseta)	
Monoraphidium arcuatum	
Monoraphidium contortum	20
Monoraphidium komarkovae	20
Monoraphidium minutum	
Monoraphidium tortile	1
Oocystis sp.	10
Pediastrum boryanum	
Pediastrum duplex	
Pediastrum tetras	
Scenedesmus acuminatus	1
Scenedesmus acutus	10
Scenedesmus armatus et var.	
Scenedesmus bicaudatus	10
Scenedesmus intermedius et var.	125
Scenedesmus opoliensis	
Scenedesmus protuberans	
Scenedesmus quadricauda	35
Scenedesmus longispina	75
Scenedesmus magnus	1
Scenedesmus spinosus	20
Scenedesmus div. sp.	
Tetraedron caudatum	
Tetraedron regulare	
Tetraedron trigonum	
Tetrastrum cf. glabrum	
Tetrastrum staurogeniaeforme	
Westella botryoides	
Chlorococcales non identifiees	
CHRYSOPHYCEES ET XANTHOPHYCEES	
	45
Dinobryon cf. sociale	45
Synura sp.	
Non identifiees	
DIATOMEES	
	1523
Achnanthes div. sp.	
Amphora ovalis	
Asterionella formosa	

Centriques (ensemble)	1360
Cymbella minuta	
Cymbella div. sp.	
Diatoma tenue var. elongatum	1
Diatoma vulgare	
Fragilaria div. sp.	1
Gomphonema div. sp.	
Gyrosigma div. sp.	
Aulacoseira ambigua	20
Aulacoseira granulata	
Aulacoseira granulata var. angustissima	
Melosira varians	20
Navicula lanceolata	
Navicula gr. lineolatae	
Navicula tripunctata	
Nitzschia acicularis	1
Nitzschia fruticosa	
Nitzschia linearis	
Nitzschia palea	
Nitzschia vermicularis	
Nitzschia div. sp.	
Rhoicosphenia abbreviata	
Skeletonema potamos	45
Skeletonema subsalsum	65
Surirella div. sp.	
Synedra acus et var.	10
Synedra ulna et var.	
Synedra div. sp.	
Tabellaria fenestrata	
-----	
CYANOPHYCEES	22
-----	
Anabaena sp.	
Chroococcus minutus et C. dispersus	
Lyngbya contorta	
Lyngbya limnetica	
Lyngbya div. sp.	
Microcystis sp.	
Oscillatoria agardhii	1
Oscillatoria limnetica	1
Oscillatoria planctonica	
Oscillatoria cf. tenuis	
Oscillatoria sp.	20
Pseudanabaena catenata	
-----	
EUGLENOPHYCEES	0
-----	
Euglena div. sp.	
Lepocinclis ovum	
Phacus div. sp.	
Trachelomonas sp.	
-----	
CRYPTOPHYCEES	920
-----	
Chroomonas acuta	820
Chroomonas cf. norstedtii	45
Cryptomonas ovata	
Cryptomonas div. sp.	55
-----	
DINOPHYCEES	1
-----	
Peridinium div. sp.	
Gymnodinium sp.	1
-----	
TOTAL	2859

PHYTOPLANKTON DE LA MEUSE - 1992	
BIOVOLUMES ( $\mu\text{m}^3$ )	
TAXONS	
CHLOROPHYTES	
Actinastrum hantzschii	100
Ankistrodesmus falcatus	250
Chlamydomonas sp.	750
Chlorella vulgaris	40
Closteriopsis longissima	
Closterium sp.	4000
Coelastrum microporum	700
Coelastrum microporum (petites col.)	1500
Cosmarium sp.	3000
Crucigenia quadrata	
Crucigenia rectangularis	75
Crucigenia tetrapedia	40
Dictyosphaerium ehrenbergianum	40
Dictyosphaerium pulchellum	40
Didymocystis bicellularis	60
Keratococcus suecicus	350
Kirchneriella div. sp.	50
Lagerheimia cf. balatonica	
Lagerheimia genevensis (=L. quadriseta)	100
Monoraphidium arcuatum	50
Monoraphidium contortum	40
Monoraphidium komarkovae	50
Monoraphidium minutum	35
Monoraphidium tortile	30
Oocystis sp.	400
Pediastrum boryanum	200
Pediastrum duplex	200
Pediastrum tetras	200
Scenedesmus acuminatus	75
Scenedesmus acutus	75
Scenedesmus armatus et var.	150
Scenedesmus bicaudatus	150
Scenedesmus intermedius et var.	20
Scenedesmus opoliensis	200
Scenedesmus protuberans	
Scenedesmus quadricauda	150
Scenedesmus longispina	150
Scenedesmus magnus	650
Scenedesmus spinosus	20
Scenedesmus div. sp.	200
Tetraedron caudatum	50
Tetraedron regulare	50
Tetraedron trigonum	50
Tetrastrum cf. glabrum	
Tetrastrum staurogeniaeforme	
Westella botryoides	100
Chlorococcales non identifiees	200
CHRYSOPHYCEES ET XANTHOPHYCEES	
Dinobryon cf. sociale	800
Synura sp.	
Non identifiees	
DIATOMEES	
Achnanthes div. sp.	
Amphora ovalis	
Asterionella formosa	350

Centriques (ensemble)	500
Cymbella minuta	
Cymbella div. sp.	
Diatoma tenue var. elongatum	2500
Diatoma vulgare	6000
Fragilaria div. sp.	
Gomphonema div. sp.	
Gyrosigma div. sp.	
Aulacoseira ambigua	500
Aulacoseira granulata	1000
Aulacoseira granulata var. angustissima	500
Melosira varians	
Navicula lanceolata	1350
Navicula gr. lineolatae	300
Navicula tripunctata	1000
Nitzschia acicularis	100
Nitzschia fruticosa	350
Nitzschia linearis	
Nitzschia palea	500
Nitzschia vermicularis	
Nitzschia div. sp.	250
Rhoicosphenia abbreviata	
Skeletonema potamos	75
Skeletonema subsalsum	75
Surirella div. sp.	1000
Synedra acus et var.	2000
Synedra ulna et var.	10000
Synedra div. sp.	
Tabellaria fenestrata	2800
-----	
CYANOPHYCEES	
-----	
Anabaena sp.	2000
Chroococcus minutus et C. dispersus	250
Lyngbya contorta	
Lyngbya limnetica	250
Lyngbya div. sp.	
Microcystis sp.	
Oscillatoria agardhii	
Oscillatoria limnetica	250
Oscillatoria planctonica	
Oscillatoria cf. tenuis	
Oscillatoria sp.	
Pseudanabaena catenata	100
-----	
EUGLENOPHYCEES	
-----	
Euglena div. sp.	
Lepocinclis ovum	
Phacus div. sp.	
Trachelomonas sp.	
-----	
CRYPTOPHYCEES	
-----	
Chroomonas acuta	60
Chroomonas cf. norstedtii	35
Cryptomonas ovata	1500
Cryptomonas div. sp.	1000
-----	
DINOPHYCEES	
-----	
Peridinium div. sp.	12500
Gymnodinium sp.	
-----	

Tab. 4. Biomasse en  $\mu\text{C/l}$ 

	Date	Chlorophytes	Diatomées	Cyanobactéries	Cryptophycées	Dinophycées	Total
1	29/01	3,4	224,3	0,3	0,0	0,0	228,0
2	05/02	1,0	102,0	0,0	0,0	0,0	103,0
3	13/02	0,6	318,2	101,0	17,1	0,0	344,8
4	27/02	2,6	792,2	0,1	2,2	0,0	797,1
5	04/03	5,2	291,0	1,9	1,5	0,0	299,7
6	11/03	401,8	3212,2	6,6	29,0	0,0	3649,6
7	26/03	0,6	190,8	2,7	0,5	0,0	194,6
8	03/04	8,4	161,7	3,5	9,6	0,0	183,3
9	09/04	2,5	530,6	2,7	13,0	0,0	548,8
10	14/04	278,6	2761,7	11,7	59,6	0,0	3111,6
11	17/04	69,2	2363,0	18,0	53,0	0,0	2503,6
12	27/04	28,8	2396,1	0,0	17,4	0,0	2442,4
13	07/05	139,0	2101,3	36,8	43,3	0,0	2320,4
14	15/05	432,0	2435,9	40,5	95,1	0,0	3003,6
15	21/05	657,1	874,2	19,0	133,5	7,8	1691,6
16	29/05	185,9	103,7	8,5	64,6	250,7	613,3
17	05/06	191,8	239,3	11,1	46,0	81,4	569,5
18	11/06	91,8	169,7	2,6	31,8	0,0	296,0
19	28/06	32,2	108,1	5,7	1,0	57,3	204,2
20	01/07	78,8	131,6	1,9	5,8	57,3	275,3
21	17/07	95,8	186,2	16,1	15,7	456,8	770,6
22	24/07	141,4	364,0	3,8	41,2	289,7	840,0
23	22/08	108,0	190,3	22,5	34,1	270,3	625,2
24	03/10	23,1	315,6	171,2	15,7	0,0	525,6
25	16/10	21,2	282,0	0,3	49,6	0,0	353,0

### **3.3. Résultats de l'analyse en HPLC sur l'eau brute**

Les tableaux 6 à 24 contiennent tous les résultats des dosages effectués sur la Meuse à la station de la Plante. Les deux derniers tableaux reprennent les résultats des analyses chromatographiques réalisées sur la Meuse Liégeoise au mois de mai et à la fin septembre-début octobre. Le tableau 25 reprend les concentrations pigmentaires de tous nos échantillons prélevés.

**Tab.6 Echantillon du 28/01**

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,251	Fucoxanthine	1016	35952	0,243	132,1
12,47	Phaeophorbide 1	713	4993	0,243	26,1
13,368	Phaeophorbide 2	713	1669	0,243	8,7
14,174	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	4744	0,243	12,9
14,4	Diadinoxanthine	2325	2045	0,243	3,3
14,82	Alloxanthine	2500	1604	0,243	2,4
15,498	Lutéine	2393	7722	0,243	12,0
17,969	Chlorophylle b	853	5621	0,243	24,6
18,84	Chlorophylle a"	687	4321	0,243	23,5
19,723	Chlorophylle a	687	63926	0,243	347,4
28,295	β-carotène	2209	80990	0,243	136,9

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)



Tab.7. Echantillons du 05,13, et 27/02.

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coup:	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,039	Fucoxanthine	1016	66988	0,243	328,2
12,74	Phaeophorbide 1	713	456	0,243	3,2
13,16	Phaeophorbide 2	713	1504	0,243	10,5
14,009	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	9482	0,243	34,5
14,275	Diadinoxanthine	2325	7364	0,243	15,8
14,697	Alloxanthine	2500	2799	0,243	5,6
15,06	Diatoxanthine	1634	1041	0,243	3,2
15,387	Lutéine	2393	10909	0,243	22,7
17,868	Chlorophylle b	853	3414	0,243	19,9
18,799	Chlorophylle a"	687	9191	0,243	66,6
19,657	Chlorophylle a	687	98467	0,243	713,5
20,236	Chlorophylle a	687	4333	0,243	31,4

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coup:	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,237	Fucoxanthine	1016	3079	0,243	113,2
12,452	Phaeophorbide 1	713	979	0,243	51,3
12,92	Phaeophorbide 2	713	1244	0,243	65,1
13,365	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	5881	0,243	160,4
14,179	Diadinoxanthine	2325	2464	0,243	39,6
14,456	Alloxanthine	2500	2034	0,243	30,4
15,523	Lutéine	2393	7684	0,243	119,9
18,019	Chlorophylle b	853	3399	0,243	148,8
18,952	Chlorophylle a"	687	5393	0,243	293,1
18,841	Chlorophylle a	687	62529	0,243	3398,4

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coup:	Facteur(1)	Conc. en ng/l
9,22	Chlorophylle c1	3460	25100	0,678	100,9
10,82	Chlorophylle c2	3460	613	0,678	2,5
11,992	Fucoxanthine	1016	124359	0,678	1702,4
12,7	Phaeophorbide 1	713	2904	0,678	56,6
13,117	Phaeophorbide 2	713	4066	0,678	79,3
13,939	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	18475	0,678	187,7
14,2	Diadinoxanthine	2325	5113	0,678	30,6
14,634	Alloxanthine	2500	6245	0,678	34,7
15,009	Diatoxanthine	1634	2902	0,678	24,7
15,304	Lutéine	2393	18659	0,678	108,4
16,38	Zéaxanthine	2000	638	0,678	4,4
17,792	Chlorophylle b	853	8891	0,678	145,0
18,669	Chlorophylle a"	687	19746	0,678	399,8
19,489	Chlorophylle a	687	182487	0,678	3694,4
20,039	$\beta$ -carotène	2209	4848	0,678	30,5

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab.8. Echantillons du 04,11 et 27/03

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
9,4	Chlorophylle c1	3460	6607	0,243	14,3
12,233	Fucoxanthine	1016	177291	0,243	1303,1
12,955	Phaeophorbide 1	713	2639	0,243	27,6
13,353	Phaeophorbide 2	713	4799	0,243	50,3
14,165	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	21992	0,243	120,0
14,436	Diadinoxanthine	2325	5476	0,243	17,6
14,851	Alloxanthine	2500	3184	0,243	9,5
15,14	Diatoxanthine	1634	1363	0,243	6,2
15,502	Lutéine	2393	13503	0,243	42,1
16,26	Zéaxanthine	2000	3324	0,243	12,4
17,98	Chlorophylle b	853	10720	0,243	93,8
18,937	Chlorophylle a"	687	30315	0,243	329,5
19,822	Chlorophylle a	687	282115	0,243	3066,5

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
9,46	Chlorophylle c1	3460	1665873	0,147	10918,2
12,234	Fucoxanthine	1016	137520	0,147	3069,4
12,954	Phaeophorbide 1	713	3016	0,147	95,9
13,356	Phaeophorbide 2	713	3874	0,147	123,2
14,17	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	15217	0,147	252,1
14,42	Diadinoxanthine	2325	2155	0,147	21,0
14,835	Alloxanthine	2500	1661	0,147	15,1
15,48	Lutéine	2393	13358	0,147	126,6
17,998	Chlorophylle b	853	11051	0,147	293,8
18,926	Chlorophylle a"	687	22583	0,147	745,4
19,812	Chlorophylle a	687	176756	0,147	5834,5

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,065	Fucoxanthine	1016	27444	0,799	83,0
14,06	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	3284	0,799	7,4
14,466	Diadinoxanthine	2325	7718	0,799	10,2
15,494	Lutéine	2393	5445	0,799	7,0
19,094	Chlorophylle a"	687	5265	0,799	23,6
20,048	Chlorophylle a	687	32453	0,799	145,2
28,9	B-carotène	2209	46356	0,799	64,5

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

**Tab.9. Echantillons du 03,09,13,17et 27/04.**

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
11,2,073	Fucoxanthine	1016	26312	0,799	1273,8
13,2	Phaeophorbide 2	713	586	0,799	40,4
14	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	8150	0,799	292,8
15,468	Luteine	2393	13801	0,799	283,7
18,99	Chlorophylle a"	687	16944	0,799	1213,1
19,912	Chlorophylle a	687	52397	0,799	3751,3
28,92	B-carotène	2209	55069	0,799	1226,2

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,37	Fucoxanthine	1016	55162	0,572	1910,3
13,223	Phaeophorbide 2	713	1590	0,572	78,5
14,038	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	6410	0,572	164,7
14,741	Alloxanthine	2500	6915	0,572	164,7
15,38	Diatoxanthine	1634	5640	0,572	121,4
17,885	Chlorophylle b	853	2568	0,572	105,9
18,798	Chlorophylle a"	687	5269	0,572	269,9
19,654	Chlorophylle a	687	60927	0,572	3120,4

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
9,277	Chlorophylle c1	3460	8817	0,678	265,8
12,136	Fucoxanthine	1016	196641	0,678	20188,8
12,884	Phaeophorbide 1	713	1698	0,678	248,4
13,297	Phaeophorbide 2	713	3050	0,678	446,2
14,13	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	13172	0,678	1003,6
14,38	Diadinoxanthine	2325	4887	0,678	219,3
15,208	Diatoxanthine	1634	1380	0,678	88,1
15,209	Lutéine	2393	11732	0,678	511,4
16,296	Zéaxanthine	2000	2685	0,678	140,0
18,055	Chlorophylle b	853	4882	0,678	597,0
19,058	Chlorophylle a"	687	50478	0,678	7664,4
19,976	Chlorophylle a	687	162241	0,678	24634,0
28,86	B-carotène	2209	21165	0,678	999,4

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
9,276	Chlorophylle c1	3460	14373	0,678	216,6
10,88	Chlorophylle c2	3460	4881	0,678	73,6
12,053	Fucoxanthine	1016	346896	0,678	17807,6
12,79	Phaeophorbide 1	713	3939	0,678	288,1
13,189	Phaeophorbide 2	713	7234	0,678	529,2
14,016	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	63487	0,678	2418,7
14,26	Diadinoxanthine	2325	36865	0,678	827,0
14,714	Alloxanthine	2500	8264	0,678	172,4
15,091	Diatoxanthine	1634	2529	0,678	80,7
15,384	Lutéine	2393	20310	0,678	442,7
16,191	Zéaxanthine	2000	4042	0,678	105,4
18,115	Chlorophylle b	853	4119	0,678	251,9
18,807	Chlorophylle a"	687	104436	0,678	7928,5
19,675	Chlorophylle a	687	382926	0,678	29070,8
20,266	Chlorophylle a'	687	18592	0,678	1411,5

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
9,251	Chlorophylle c1	3460	30620	0,678	461,5
12,109	Fucoxanthine	1016	324625	0,678	16664,3
12,84	Phaeophorbide 1	713	4443	0,678	325,0
13,272	Phaeophorbide 2	713	5182	0,678	379,1
14,12	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	39277	0,678	1496,4
14,386	Diadinoxanthine	2325	7346	0,678	164,8
14,812	Alloxanthine	2500	7148	0,678	14,9
15,18	Diatoxanthine	1634	5262	0,678	168,0
15,509	Lutéine	2393	22249	0,678	484,9
16,316	Zéaxanthine	2000	9755	0,678	254,4
18,091	Chlorophylle b	853	14915	0,678	912,0
19,119	Chlorophylle a"	687	66167	0,678	5023,2
20,062	Chlorophylle a	687	500662	0,678	38009,1
20,704	Chlorophylle a'	687	6961	0,678	528,5
28,88	B-carotène	2209	22996	0,678	542,9

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

**Tab.10. Echantillons du 07 et 15/05**

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,131	Fucoxanthine	1016	512813	0,799	31032,7
12,66	Phaeophorbide 1	713	700	0,799	60,4
12,84	Phaeophorbide 2	713	3692	0,799	318,4
14,082	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	66254	0,799	2975,5
14,363	Diadinoxanthine	2325	57345	0,799	1516,4
14,758	Alloxanthine	2500	13147	0,799	323,3
15,148	Diatoxanthine	1634	3024	0,799	113,8
15,439	Lutéine	2393	23124	0,799	594,1
16,22	Zéaxanthine	2000	5705	0,799	175,4
18,198	Chlorophylle b	853	5223	0,799	376,5
18,927	Chlorophylle a"	687	79026	0,799	7072,4
19,816	Chlorophylle a	687	189491	0,799	16958,5

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
9,21	Chlorophylle c1	3460	6860	0,799	243,7
12,064	Fucoxanthine	1016	101689	0,799	12303,1
14,437	Diadinoxanthine	2325	73144	0,799	3867,1
15,46	Lutéine	2393	7487	0,799	384,6
17,686	Chlorophylle b	853	1980	0,799	285,3
19,091	Chlorophylle a"	687	18012	0,799	3222,8
20,038	Chlorophylle a	687	68583	0,799	12271,4

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

**Tab.11. Echantillon. du 21/05**

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,224	Fucoxanthine	1016	146481	0,572	6341,0
12,928	Phaeophorbide 1	713	5436	0,572	335,3
13,316	Phaeophorbide 2	713	7325	0,572	451,8
14,114	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	20208	0,572	649,2
14,36	Diadinoxanthine	2325	3677	0,572	69,6
14,791	Alloxanthine	2500	6654	0,572	117,1
15,12	Diatoxanthine	1634	610	0,572	16,4
15,435	Lutéine	2393	41905	0,572	770,2
17,696	Chlorophylle b	853	7189	0,572	370,7
18,905	Chlorophylle a"	687	29353	0,572	1879,2
19,794	Chlorophylle a	687	129828	0,572	8311,6
20,396	Chlorophylle a'	687	2201	0,572	140,9

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

**Tab.12. Echantillon du 29/05**

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
10,78	Chlorophylle c2	3460	240201	0,678	7241,3
12,035	Fucoxanthine	1016	17042	0,678	1749,7
12,773	Phaeophorbide 1	713	1917	0,678	280,5
13,171	Phaeophorbide 2	713	2578	0,678	377,2
14,300	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	2734	0,678	208,3
14,699	Alloxanthine	2500	3046	0,678	127,1
15,351	Lutéine	2393	14217	0,678	619,7
17,820	Chlorophylle b	853	3601	0,678	440,4
18,680	Chlorophylle a"	687	6882	0,678	1044,9
19,533	Chlorophylle a	687	34913	0,678	5301,0

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab.13. Echantillon du 05/06

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,199	Fucoxanthine	1016	15271	0,572	1322,7
12,88	Phaeophorbide 1	713	2150	0,572	265,2
13,28	Phaeophorbide 2	713	2776	0,572	342,5
14,097	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	4179	0,572	268,5
14,358	Diadinoxanthine	2325	1413	0,572	53,5
14,76	Alloxanthine	2500	3542	0,572	124,6
15,426	Lutéine	2393	17232	0,572	633,4
17,934	Chlorophylle b	853	12474	0,572	1286,4
18,831	Chlorophylle a"	687	5954	0,572	762,4
19,694	Chlorophylle a	687	39314	0,572	5033,8
21,751	Chlorophylle a'	687	2032	0,572	260,2

(1) Facteur= ((surface Chlo.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab 14. Echantillon du 11/06

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur (1)	Conc. en ng/l
12,06	Fucoxanthine	1016	7626	0,572	660,5
12,78	Phaeophorbide 1	713	920	0,572	113,5
14,02	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	2103	0,572	135,1
14,3	Diadinoxanthine	2325	2579	0,572	97,6
14,732	Alloxanthine	2500	3830	0,572	134,8
15,08	Diatoxanthine	1634	732	0,572	39,4
15,395	Lutéine	2393	8962	0,572	329,4
17,84	Chlorophylle b	853	2063	0,572	212,7
18,741	Chlorophylle a"	687	1958	0,572	250,7
19,577	Chlorophylle a	687	19233	0,572	2462,6

(1) Facteur= ((surface Chlo.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab.15. Echantillon du 28/06

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur (1)	Conc. en ng/l
12,004	Fucoxanthine	1016	9248	0,572	801,0
12,72	Phaeophorbide 1	713	1946	0,572	240,1
13,987	Phaeophorbide 2	713	1832	0,572	226,0
14,384	Diadinoxanthine	2325	3678	0,572	139,2
15,34	Lutéine	2393	9395	0,572	345,4
17,892	Chlorophylle b	853	6207	0,572	640,1
18,779	Chlorophylle a"	687	1974	0,572	252,8
19,645	Chlorophylle a	687	18698	0,572	2394,1

(1) Facteur = ((surface Chlo. a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

**Fig.16. Echantillon du 01/07**

Temps de rétention (min)	Pigments	E% 440nm.	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,125	Fucoxanthine	1016	39980	0,679	4109,4
12,86	Phaeophorbide 1	713	2607	0,679	381,8
13,29	Phaeophorbide 2	713	2733	0,679	400,3
14,135	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	5466	0,679	417,0
14,487	Diadinoxanthine	2325	3551	0,679	159,5
14,853	Alloxanthine	2500	3329	0,679	139,1
15,523	Lutéine	2393	17769	0,679	775,4
18,1	Chlorophylle b	853	2283	0,679	279,5
19,131	Chlorophylle a "	687	7076	0,679	1075,6
20,083	Chlorophylle a	687	56869	0,679	8644,6
28,92	β-carotène.	2209	23906	0,679	1130,2

F(1) Facteur = ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

**Tab.17. Echantillon du 17/07**

Temps de rétention (min)	Pigments	E% 440nm.	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,02	Fucoxanthine	1016	4989	0,799	603,8
12,68	Phaeophorbide 1	713	2487	0,799	428,9
13,02	Phaeophorbide 2	713	1103	0,799	190,2
14	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	7056	0,799	633,8
14,3	Diadinoxanthine	2325	1157	0,799	61,2
14,735	Alloxanthine	2500	4399	0,799	216,4
15,337	Lutéine	2393	22797	0,799	1171,5
17,915	Chlorophylle b	853	7334	0,799	1057,3
18,829	Chlorophylle a "	687	8660	0,799	1550,1
19,711	Chlorophylle a	687	83499	0,799	14945,9

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

**Tab.18. Echantillon du 24/07**

Temps de rétention (min)	Pigments	E% 440nm.	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,072	Fucoxanthine	1016	32653	0,799	3952,0
12,811	Phaeophorbide 1	713	5605	0,799	966,7
13,215	Phaeophorbide 2	713	5972	0,799	1029,9
14,057	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	3858	0,799	346,5
14,431	Diadinoxanthine	2325	3451	0,799	182,5
14,772	Alloxanthine	2500	3862	0,799	190,0
15,439	Lutéine	2393	29375	0,799	1509,4
18,029	Chlorophylle b	853	7094	0,799	1022,6
18,991	Chlorophylle a "	687	9384	0,799	1679,6
19,897	Chlorophylle a	687	64093	0,799	11472,0
28,88	β-carotène.	2209	48535	0,799	2701,7

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

**Fig.19. Echantillon du 31/07**

Temps de rétention (min)	Pigments	E% 440nm.	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,036	Fucoxanthine	1016	33605	0,678	3450,1
12,777	Phaeophorbide 1	713	2402	0,678	351,4
13,186	Phaeophorbide 2	713	2722	0,678	398,2
14	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	64558	0,678	4919,0
14,36	Diadinoxanthine	2325	2777	0,678	124,6
14,736	Alloxanthine	2500	5504	0,678	229,6
15,431	Lutéine	2393	21345	0,678	930,4
19,013	Chlorophylle a "	687	41436	0,678	6291,4
19,953	Chlorophylle a	687	23312	0,678	3539,6
28,82	β-carotène	2209	39342	0,678	1857,7

(1) Facteur= ((surface chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab.20. Echantillon du 22/08

Temps de rétention (min)	Pigments	E% 440nm.	Surface en coup	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,036	Fucoxanthine	1016	18546	0,799	2244,6
12,777	Phaeophorbide 1	713	2972	0,799	512,6
13,186	Phaeophorbide 2	713	3680	0,799	634,7
14	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	3227	0,799	289,9
14,36	Diadinoxanthine	2325	2791	0,799	147,6
14,736	Alloxanthine	2500	8450	0,799	415,6
15,431	Lutéine	2393	18167	0,799	933,5
18,068	Chlorophylle b	853	3787	0,799	545,9
19,013	Chlorophylle a "	687	7053	0,799	1262,4
19,953	Chlorophylle a	687	50373	0,799	9016,2
28,9	B-carotène	2209	24798	0,799	1380,4

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab.21. Echantillon du 03/10

Temps de rétention (min)	Pigments	E% 440nm.	Surface en coup	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,049	Fucoxanthine	1016	31648	0,799	3829,0
12,789	Phaeophorbide 1	713	4728	0,799	815,4
13,189	Phaeophorbide 2	713	5053	0,799	871,4
14,018	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	3390	0,799	304,5
14,286	Diadinoxanthine	2325	3870	0,799	204,7
15,384	Lutéine	2393	29824	0,799	1532,5
18,792	Chlorophylle a "	687	12875	0,799	2304,5
19,645	Chlorophylle a	687	88240	0,799	15793,9

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab.22 Echantillon du 16/10

Temps de rétention (min)	Pigments	E% 440nm.	Surface en coup	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,005	Fucoxanthine	1016	56917	0,572	4929,8
12,739	Phaeophorbide 1	713	1410	0,572	174,0
13,149	Phaeophorbide 2	713	2179	0,572	268,9
13,979	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	10016	0,572	643,8
14,26	Diadinoxanthine	2325	2769	0,572	104,8
14,707	Alloxanthine	2500	3104	0,572	109,3
15,352	Lutéine	2393	88628	0,572	3259,2
18,769	Chlorophylle a "	687	3992	0,572	511,3
19,614	Chlorophylle a	687	42961	0,572	5503,0

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab.23.Meuse Liégeoise le 26/05: eau brute.

<b>Ampsin</b>					
Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,128	Fucoxanthine	1016	17680	0,799	2139,8
12,82	Phaeophorbide 1	713	1212	0,799	209,0
13,282	Phaeophorbide 2	713	1597	0,799	275,4
14,131	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	1787	0,799	160,5
14,46	Diadinoxanthine	2325	2693	0,799	142,4
14,855	Alloxanthine	2500	3395	0,799	167,0
15,5	Lutéine	2393	11361	0,799	583,8
18,11	Chlorophylle b	853	2571	0,799	370,6
19,11	Chlorophylle a"	687	3728	0,799	667,3
20,059	Chlorophylle a	687	28245	0,799	5055,6
28,86	β-carotène	2209	44448	0,799	2474,3

<b>Fragnée.</b>					
Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,05	Fucoxanthine	1016	24268	0,799	2937,1
12,798	Phaeophorbide	713	5699	0,799	982,9
13,18	Phaeophorbide 2	713	6349	0,799	1095,0
14,064	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	2386	0,799	214,3
14,429	Diadinoxanthine	2325	2915	0,799	154,2
14,79	Alloxanthine	2500	2615	0,799	128,6
15,462	Lutéine	2393	26675	0,799	1370,7
18,076	Chlorophylle b	853	6590	0,799	950,0
19,059	Chlorophylle a"	687	15992	0,799	2862,4
19,993	Chlorophylle a	687	47952	0,799	8582,8
28,86	β-carotène	2209	24507	0,799	1364,2

<b>Monsin</b>					
Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,067	Fucoxanthine	1016	14752	0,572	1277,2
12,78	Phaeophorbide 1	713	2420	0,572	298,6
13,18	Phaeophorbide 2	713	2840	0,572	350,4
14,03	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	4287	0,572	275,5
14,36	Diadinoxanthine	2325	1965	0,572	74,3
14,753	Alloxanthine	2500	5570	0,572	196,0
15,391	Lutéine	2393	15127	0,572	556,1
17,907	Chlorophylle b	853	4303	0,572	443,7
18,795	Chlorophylle a"	687	5373	0,572	688,0
19,655	Chlorophylle a	687	43377	0,572	5554,0

<b>Argenteau</b>					
Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,074	Fucoxanthine	1016	1098	0,799	132,9
12,824	Phaeophorbide 1	713	314	0,799	54,2
13,237	Phaeophorbide 2	713	327	0,799	56,4
14,06	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	132	0,799	11,9
14,487	Diadinoxanthine	2325	298	0,799	15,8
15,489	Lutéine	2393	1824	0,799	93,8
18,098	Chlorophylle b	853	337	0,799	48,6
19,093	Chlorophylle a"	687	371	0,799	66,4
20,034	Chlorophylle a	687	1437	0,799	257,3
28,92	β-carotène	2209	651	0,799	36,2

<b>Lixhe</b>					
Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,092	Fucoxanthine	1016	8643	0,572	748,3
12,822	Phaeophorbide 1	713	1433	0,572	176,8
13,2	Phaeophorbide 2	713	2264	0,572	279,3
14,056	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	2095	0,572	134,6
15,407	Lutéine	2393	15503	0,572	569,9
17,915	Chlorophylle b	853	1828	0,572	188,5
18,803	Chlorophylle a"	687	3116	0,572	399,0
19,64	Chlorophylle a	687	19866	0,572	2543,7

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)



Tab.24. Meuse Liégeoise : eau brute.

Ampsin le 02/10

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,054	Fucoxanthine	1016	63855	0,917	4434,1
12,811	Phaeophorbide 1	713	3998	0,917	395,6
13,224	Phaeophorbide 2	713	4139	0,917	409,6
14,08	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	7840	0,917	404,0
14,449	Diadinoxanthine	2325	68979	0,917	2093,1
15,449	Luteine	2393	18083	0,917	533,1
19,144	Chlorophylle a"	687	7299	0,917	749,6
20,108	Chlorophylle a	687	27913	0,917	2866,5

Fragnée le 02/10

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,092	Fucoxanthine	1016	52769	0,917	3664,2
12,82	Phaeophorbide 1	713	5994	0,917	593,1
13,253	Phaeophorbide 2	713	5351	0,917	529,5
14,08	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	11594	0,917	597,5
14,475	Diadinoxanthine	2325	83172	0,917	2523,7
14,831	Alloxanthine	2500	1875	0,917	52,9
15,487	Luteine	2393	23077	0,917	680,3
18,1	Chlorophylle b	853	9886	0,917	817,6
19,088	Chlorophylle a"	687	14253	0,917	1463,7
20,046	Chlorophylle a	687	50594	0,917	5195,6
24,284	Phéophytine a1	713	6047	0,917	598,3
28,94	B-carotène	2209	45499	0,917	1453,1

Monsin le 30/09

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
10,906	Chlorophylle c2	3460	2878	0,917	78,2
12,084	Fucoxanthine	1016	32618	0,917	3019,9
12,8	Phaeophorbide 1	713	4130	0,917	544,9
13,247	Phaeophorbide 2	713	3803	0,917	501,7
13,52	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	3074	0,917	211,2
14,12	Diadinoxanthine	2325	105560	0,917	4270,8
14,859	Alloxanthine	2500	4556	0,917	171,4
15,511	Lutéine	2393	13311	0,917	523,2
18,149	Chlorophylle b	853	10020	0,917	1105,0
19,158	Chlorophylle a"	687	14048	0,917	1923,5
20,128	Chlorophylle a	687	78156	0,917	10701,4
28,9	B-carotène	2209	48673	0,917	2072,6

Argenteau le 30/09

Temps de rétention (min.)	Pigments	E%400nm	Surface en coups	Facteur(1)	Conc. en ng/l
12,088	Fucoxanthine	1016	18661	0,917	1727,7
12,847	Phaeophorbide 1	713	3708	0,917	489,2
13,254	Phaeophorbide 2	713	3970	0,917	523,8
14,099	Hexanoyl-fucoxanthine	1369	2842	0,917	195,3
14,466	Diadinoxanthine	2325	37658	0,917	1523,6
15,498	Lutéine	2393	14428	0,917	567,1
18,098	Chlorophylle b	853	3909	0,917	431,1
19,115	Chlorophylle a"	687	3187	0,917	436,4
20,017	Chlorophylle a	687	19289	0,917	2641,1

(1) Facteur= ((surface Chl.a en coups\*687)/poids Chl.a en ng.)

Tab.25 . Conc.plgiments (µg/l)

	Date	temps(jours)	Chlorophylle c1	Chlorophylle c2	Fucocoxanthine	Phaeophorbide 1	Phaeophorbide 2	Hexanoyl-fucocoxanthine	Diadinoxanthine	Diatocoxanthine	Alloxanthine	Lutéine	Zéaxanthine	Chlorophylle b
1	28/01	28	0,000	0,000	132,123	26,147	8,740	12,939	3,284	0,000	2,4	12,049	0,000	24,604
2	05/02	36	0,000	0,000	328,236	3,184	10,541	34,481	15,768	3,172	5,6	22,695	0,000	19,925
3	13/02	41	0,000	0,000	113,152	51,287	65,145	160,397	39,570	0,000	30,4	119,893	0,000	148,782
4	27/02	58	100,891	2,464	1702,369	56,647	79,314	187,694	30,586	24,701	34,7	108,447	4,437	144,968
5	04/03	64	14,277	0,000	1303,076	27,639	50,262	119,960	17,588	6,229	9,5	42,137	12,411	93,847
6	11/03	71	10918,152	0,000	3069,414	95,924	123,212	252,063	21,019	0,000	15,1	126,585	0,000	293,789
7	27/03	87	0,000	0,000	83,037	0,000	0,000	7,374	10,205	0,000	0,0	6,995	0,000	0,000
8	03/04	94	0,000	0,000	1273,798	0,000	40,411	292,816	0,000	0,000	0,0	283,664	0,000	0,000
9	09/04	100	0,000	0,000	1910,320	0,000	78,463	164,746	0,000	121,447	121,4	0,000	0,000	105,927
10	13/04	104	265,804	0,000	20188,767	248,416	446,213	1003,644	219,256	88,096	0,0	511,400	140,038	597,008
11	17/04	108	216,649	73,573	17807,585	288,135	529,162	2418,693	826,972	80,773	172,4	442,656	105,406	251,850
12	27/04	118	461,546	0,000	16664,347	325,003	379,060	1496,356	164,789	167,957	14,9	484,917	254,917	911,957
13	07/05	129	0,000	0,000	31032,725	60,362	318,366	2975,523	1516,447	113,785	323,3	594,121	175,380	376,466
14	15/05	137	243,715	0,000	12303,076	0,000	0,000	0,000	3867,134	0,000	0,0	384,591	0,000	285,331
15	21/05	142	0,000	0,000	6341,036	335,322	451,846	649,221	69,557	16,419	117,1	770,186	0,000	370,674
16	29/05	151	0,000	7241,275	1749,678	280,455	377,159	208,318	0,000	0,000	127,1	619,721	0,000	440,357
17	05/06	157	0,000	0,000	1322,685	265,248	342,478	268,517	53,459	0,000	124,6	633,426	0,000	1286,350
18	11/06	163	0,000	0,000	660,520	113,500	0,000	135,124	97,572	0,000	134,8	329,428	0,000	212,740
19	28/06	180	0,000	0,000	801,008	240,083	226,019	0,000	139,154	0,000	0,0	345,352	0,000	640,090
20	01/07	183	0,000	0,000	4109,392	381,839	400,294	416,960	159,498	0,000	139,1	775,441	0,000	279,502
21	17/07	199	0,000	0,000	603,832	428,926	190,232	633,799	61,194	0,000	216,4	1171,471	0,000	1057,276
22	24/07	206	0,000	0,000	3951,963	966,651	1029,944	346,531	182,518	0,000	190,0	1509,450	0,000	1022,647
23	31/07	213	0,000	0,000	3450,137	351,406	398,222	4918,955	124,589	0,000	229,6	930,421	0,000	0,000
24	22/08	237	0,000	0,000	2244,600	512,556	634,659	289,853	147,611	0,000	415,6	933,519	0,000	545,920
25	03/10	277	0,000	0,000	3829,005	815,395	871,444	304,492	204,676	0,000	134,8	1532,509	0,000	0,000
26	16/10	290	4929,819	0,000	4929,819	174,025	268,937	643,833	104,805	0,000	109,3	3259,199	0,000	0,000

## Chlorophylle a'' Chlorophylle a Chlorophylle a' Phéophytine a1 Phéophytine a2 β-carotène

1	23,5	347,4	0,0	0,000	0,000	136,894
2	66,6	713,5	31,4	0,000	0,000	0,000
3	293,1	3398,4	0,0	0,000	0,000	0,000
4	399,8	3694,4	0,0	0,000	0,000	30,524
5	329,5	3066,5	0,0	0,000	0,000	0,000
6	745,4	5834,5	0,0	0,000	0,000	0,000
7	23,6	145,2	0,0	0,000	0,000	64,510
8	1213,1	3751,3	0,0	0,000	0,000	1226,163
9	269,9	3120,4	0,0	0,000	0,000	0,000
10	7664,4	24634,0	0,0	999,434	0,000	999,434
11	7928,5	29070,8	1411,5	0,000	0,000	0,000
12	5023,2	38009,1	528,5	0,000	0,000	542,946
13	7072,4	16858,5	0,0	0,000	0,000	0,000
14	3222,8	12271,4	0,0	0,000	0,000	0,000
15	1879,2	8311,6	140,9	0,000	0,000	0,000
16	1044,9	5301,0	0,0	0,000	0,000	0,000
17	762,4	5033,8	260,2	0,000	0,000	0,000
18	250,7	2462,6	0,0	0,000	0,000	0,000
19	252,8	2394,1	0,0	0,000	0,000	0,000
20	1075,6	8644,6	0,0	0,000	0,000	1130,159
21	1550,1	14945,9	0,0	0,000	0,000	0,000
22	1679,6	11472,0	0,0	0,000	0,000	21859,451
23	6291,4	3539,6	0,0	0,000	0,000	1857,749
24	1262,4	9016,2	0,0	0,000	0,000	0,000
25	2304,5	15793,9	0,0	0,000	0,000	0,000
26	511,3	5503,0	0,0	0,000	0,000	0,000