

Essai de modélisation de l'assimilation de ^{32}P par le phytoplancton

Jean PAGÈS (1) et Lionel LEMASSON (2)

RÉSUMÉ

La non-linéarité de l'assimilation, constatée surtout lors de l'emploi du ^{32}P , et l'inadaptation des modèles existant nous a menés à créer un modèle tenant compte de l'adsorption, de l'excrétion et de l'effet de la lumière.

Des simulations numériques reproduisent les courbes expérimentales et permettent de déterminer les taux de transfert. Nous utilisons d'autre part le modèle pour étudier l'effet d'une assimilation non linéaire sur la détermination des constantes cinétiques K_s et V_m .

MOTS-CLÉS : ^{32}P — Modèle — Cinétique — Phytoplancton.

ABSTRACT

MODELING APPROACH OF ^{32}P UPTAKE BY PHYTOPLANKTON

During experiments with ^{32}P , a non-linear uptake of the tracer was seen. We had to create a new model accounting for adsorption, excretion and light effect.

By numerical simulations, the model has been fitted to various experimental curves and the transport rates have been determined. We also used the model to simulate the effect of a non-linear uptake upon the determination of the kinetic constants K_s and V_m .

KEY WORDS : ^{32}P — Modeling — Kinetics — Phytoplankton.

1. INTRODUCTION

Dans les biotopes aquatiques, la détermination des vitesses d'assimilation des substances nutritives par les organismes planctoniques est rendue difficile par les faibles concentrations de substrat, et de biomasse. L'emploi des traceurs, et spécialement des radiotraceurs, semble fournir une solution aisée à ces problèmes pour plusieurs éléments. STEEMAN NIELSEN (1951) a décrit l'emploi de ^{14}C pour suivre l'assimilation du carbone minéral; celle du carbone organique est déterminée au moyen de molécules marquées au ^{14}C (WRIGHT et HOBBS, 1965). Les silicates sont suivis par emploi de ^{30}Si (NELSON et GOERING, 1978). L'utilisation des

diverses formes d'azote minéral est déterminée au moyen de l'isotope stable ^{15}N (EPPLEY *et al.*, 1973). L'isotope ^{32}P permet d'étudier l'assimilation des phosphates (FAUST et CORRELL, 1976); c'est cet isotope, et les problèmes que nous avons rencontrés lors de son emploi, que nous considérerons plus particulièrement ici.

Il est évident que l'utilisation du traceur par les microorganismes devrait être analogue à celle du substrat naturel; il arrive cependant que le traceur employé ait une forme chimique différente de celle du substrat théoriquement étudié (^{14}C -glucose pour marquer le carbone organique dissous, par exemple) et l'extrapolation des résultats sera incertaine. Quelques difficultés purement théoriques se greffent

(1) C.R.O.D.T., B.P. 2241, Dakar, Sénégal.

(2) Centre O.R.S.T.O.M., B.P. A 5, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

sur ces restrictions évidentes. La détermination d'une vitesse implique par définition que la fonction soit connue; l'hypothèse la plus fréquente est que le taux d'accumulation de la radioactivité est constant, alors que ce n'est pas toujours vrai (WRIGHT et HOBBIÉ, 1965; VACCARO, 1969; HELLEBUST, 1970; WALLEN, 1973; TAFT *et al.*, 1975).

Dans le cas particulier du $^{32}\text{P-PO}_4$, nous avons observé parfois des taux d'assimilation non constants (LEMASSON *et al.*, 1980). Des variations analogues des taux d'assimilation sont relevées par plusieurs auteurs (BROWN *et al.*, 1978; GUNATILAKA, 1978; BERMAN et SKYRING, 1979). D'autres travaux, par contre, font apparaître des taux constants (CHISHOLM et STROSS, 1976; NALEWAJKO et LEAN, 1978). Cela nous a amenés à examiner quelques détails théoriques de l'emploi des traceurs, et à tenter de développer un modèle assez général décrivant l'utilisation d'un traceur par une population phytoplantonique naturelle.

L'analyse compartimentale a été employée par de nombreux auteurs, soit dans une optique générale souvent en liaison avec la médecine (BERMAN et SCHOENFELD, 1956; ROBERTSON, 1957; THORNE, 1977), soit dans le domaine plus restreint de la biologie aquatique (CONOVER et FRANCIS, 1973; BERNHARD *et al.*, 1975; HOBSON *et al.*, 1976). Les modèles existant n'ont pu rendre compte de certains phénomènes expérimentaux, notamment des assimilations bi-phasiques observées parfois avec le ^{32}P (LEMASSON *et al.*, 1980). Nous avons de ce fait été conduits, après essai de systèmes plus simples, à adopter le modèle décrit ici, qui est assez complexe.

2. SYMBOLES ET PRINCIPES

Dans ce qui suit, nous utiliserons la notation d'ATKINS (1973), selon laquelle Q_i est la quantité (en μatg) de l'élément considéré dans le compartiment i , q_i l'activité (en cpm) du traceur, a_i l'activité spécifique (q_i/Q_i). La vitesse de transport de i vers j est R_{ji} (en $\mu\text{atg}\cdot\text{h}^{-1}$, par exemple), la constante de vitesse est k_{ji} (en h^{-1}) (fig. 1).

Le but des expériences avec traceur est la détermination des diverses vitesses de transport R_{ij} entre compartiments. Dans le cas le plus général d'un système non à l'équilibre, où les Q_i varient, la solution générale sera (BERNHARD *et al.*, 1975) une série d'équations de la forme :

$$R_{ij} = f(a_j, dQ_j/dt, dq_j/dt).$$

La mesure des variations de Q_j , souvent faibles, présente un problème; l'accès à tous les compartiments n'est pas toujours possible, bien que ce soit un impératif explicite (BERNHARD et ZATERA, 1975) ou implicite (ROBERTSON, 1957). Dans un système à l'équilibre, où les Q_i ne varient pas,

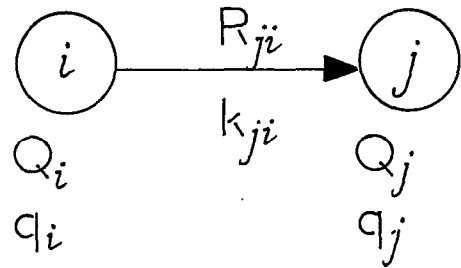


FIG. 1. — Principe de nomenclature des flux (voir texte)
Flow naming principle (see text)

BERNHARD *et al.* (1975) définissent les constantes de vitesse par : $k_{ji} = R_{ji}/Q_i$.

Cette formulation implique un contrôle linéaire des flux, ici par le compartiment donneur; cela n'est généralement pas vrai pour les systèmes rencontrés en biologie aquatique. L'hypothèse de l'état d'équilibre mène à des équations différentielles linéaires sur les q_i , de la forme :

$$dq_i/dt = \sum k_{ij} \cdot q_j - \sum k_{ji} \cdot q_i$$

qui se résolvent en :

$$q_i = \sum C_{in} \cdot e^{-h_n \cdot t}$$

où les C_{in} et h_n sont des fonctions des k_{ij} (SOLOMON, 1953; ROBERTSON, 1957). En théorie, les coefficients C_{in} et h_n peuvent être déterminés par déconvolution des courbes expérimentales de q_i (CROWE et GROWE, 1969; SHIPLEY et CLARKE, 1972); les k_{ij} seront ensuite calculés à partir des C_{in} et h_n (ROBERTSON, 1957; BERNHARD *et al.*, 1975; THORNE, 1977). En fait, les calculs se heurtent à deux obstacles; tout d'abord, l'analyse d'une somme d'exponentielles n'est pas toujours possible et exige une précision rarement atteinte (1 à 4 %) des résultats expérimentaux (ATKINS, 1973); d'autre part, l'expression des C_{in} en fonction des k_{ij} devient rapidement inextricable quand le nombre de compartiments augmente.

Nous voyons que la résolution analytique d'un système, basée sur plusieurs hypothèses (système à l'équilibre, contrôle linéaire des flux, etc.), ne sera pas toujours facile à partir de données expérimentales. Nous avons essayé de construire un modèle plus général, et de tourner les difficultés théoriques par l'usage de la simulation numérique.

3. MODÈLE GÉNÉRAL NON LINÉAIRE

3.1. Hypothèses et description du modèle

3.1.1. ASSIMILATION

Une cinétique de type Michaelis-Menten a été décrite pour des cultures bactériennes (MONOD,

1950). Pour des populations naturelles, une cinétique analogue d'assimilation a été observée sur de nombreux substrats (HOBBIÉ et WRIGHT, 1965; McISAAC et DUGDALE, 1969) bien que des déviations aient été observées (BROWN *et al.*, 1978) ou prédites (WILLIAMS, 1973).

L'observation d'une assimilation superflue (« luxury uptake ») a conduit CAPERON (1968) et DROOP (1974) à formuler la notion d'un quota intracellulaire de substrat; TILMAN (1977) montre que le modèle de DROOP rend bien compte de l'assimilation superflue. GOLDMAN (1977) a montré que les modèles de MONOD et de DROOP sont compatibles. Nous avons utilisé la combinaison des deux suivant la formulation de LEHMAN *et al.* (1975) :

$$\Delta = \frac{M-A}{M-m} B \cdot \frac{Q_1}{K+Q_1} \cdot V$$

où Δ , taux d'assimilation (en μatg d'élément par unité de temps), est fonction du quota intracellulaire A (en μatg d'élément par μatg de biomasse B , exprimée en carbone) et de la concentration externe Q_1 (en μatg d'élément). M et m sont les quotas intracellulaires maximum et minimum, respectivement.

Un effet de l'éclairement sur l'assimilation du phosphore a été relevé aussi bien sur des cultures (CHISHOLM et STROSS, 1976) que sur des populations naturelles (FAUST et CORRELL, 1976). Nous avons également constaté un effet de l'éclairement (LEMAS-SON *et al.*, 1980); les populations présentent une sensibilité variable à la lumière, l'assimilation n'étant cependant jamais nulle à l'obscurité. Le taux d'assimilation, V , sera fonction de l'intensité lumineuse, W : $V = \alpha A W + C$, α et C étant des constantes.

L'intensité lumineuse elle-même est de forme sinusoïdale discontinue; sa valeur maximum est fixée à 800 W.m^{-2} d'après les mesures de terrain (PAGÈS *et al.*, 1981).

Le substrat sera représenté par le compartiment 1 (fig. 2). La production nette correspond à la synthèse et/ou à l'accumulation de produits dont nous considérons qu'ils ne jouent pas de rôle actif durant l'incubation; le compartiment 3 sera un compartiment d'accumulation analogue au « pool » interne de Droop. Le compartiment 2 représente la partie activement métabolisante de la biomasse.

3.1.2. ADSORPTION

Dans le système eau/organismes, que ceux-ci soient vivants ou morts, se déroulent des processus d'adsorption et de désorption. Plusieurs auteurs ont étudiée xpérimentalement ces phénomènes (OVERMAN et CHU, 1977; POMEROY *et al.*, 1965). Dans un système eau-sable (SEBETICH, 1975), les données

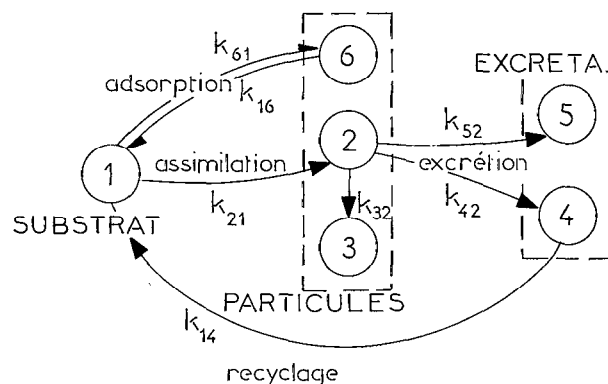


FIG. 2. — Schéma du modèle proposé (voir texte)

Proposed model diagram (see text)

expérimentales peuvent être ajustées à une exponentielle, en accord avec la théorie (ATKINS, 1973) pour un système à deux compartiments avec transfert dans un sens.

Nous admettrons que l'adsorption et l'assimilation vraie sont indépendantes, et considérerons un compartiment spécial (le numéro 6 de la fig. 2) qui corresponde à toutes les particules, vivantes ou inertes, et qui échange substrat et traceur avec le milieu extérieur (compartiment 1) d'une façon contrôlée à la fois par la masse des particules (Q_6) et la quantité de substrat. (Q_1) selon les résultats d'OVERMAN et CHU (1977). Q_6 pourra être supérieur à la biomasse vraie, $Q_2 + Q_3$.

3.1.3. EXCRÉTION

L'exsudation de carbone organique dissous par le phytoplancton vivant et intact a été bien étudiée (FOGG *et al.*, 1965; AARONSON, 1978). Nous avons pu constater qu'une excrétion de phosphore, minéral et organique, a lieu (LEMAS-SON et PAGÈS, en préparation). Il est connu que l'excrétion de phosphore organique dépend, entre autres, de l'état physiologique et nutritionnel des cellules (SAKSHAUG et HOLM-HANSEN, 1977); nous considérerons cependant que, sur l'intervalle de temps considéré (10 heures au plus), l'excrétion est seulement fonction de la biomasse active (compartiment 2).

Dans une population mixte, une part au moins des excreta d'une espèce peut être réutilisée par d'autres, le compartiment 5 étant la part non recyclable (fixation, dégagement, complexation).

L'ensemble des équations différentielles décrivant les flux selon les principes et hypothèses décrits plus haut s'établira de la façon suivante :

$$\begin{aligned} dQ_1/dt &= -\Delta + (k_{16} - k_{61}) Q_6 + k_{14} Q_4 \\ dQ_2/dt &= \Delta - (k_{32} + k_{42} + k_{52}) Q_2 \end{aligned}$$

avec

$$\Delta = \frac{M-A}{M-m} \cdot \frac{Q_1}{K+Q_1} \cdot B \cdot V_m \cdot (\alpha AW + C)$$

les symboles ayant été définis plus haut;

$$\begin{aligned} dQ_3/dt &= k_{32}Q_2 \\ dQ_4/dt &= k_{42}Q_2 - k_{14}Q_4 \\ dQ_5/dt &= k_{52}Q_2 \\ dQ_6/dt &= -(k_{16} - k_{61})Q_6 \\ dq_1/dt &= -\Delta a_1 - k_{61}Q_6 a_1 + k_{16}Q_6 a_6 + k_{14}Q_4 a_4 \\ dq_2/dt &= \Delta a_1 - (k_{32} + k_{42} + k_{52})Q_2 a_2 \\ dq_3/dt &= k_{32}Q_2 a_2 \\ dq_4/dt &= k_{42}Q_2 a_2 - k_{14}Q_4 a_4 \\ dq_5/dt &= k_{52}Q_2 a_2 \\ dq_6/dt &= k_{61}Q_6 a_1 - k_{16}Q_6 a_6 \end{aligned}$$

3.2. Applications

Lors d'une expérience utilisant les marqueurs, terminée habituellement par une filtration avec comptage ultérieur de la phase particulaire et, éventuellement, du filtrat, plusieurs des compartiments que nous avons individualisés seront réunis.

La phase particulaire est composée des compartiments 2, 3 et 6 sans être, en fait, la somme des trois. En effet, le compartiment 6 correspond plus à une évaluation de la quantité de sites actifs superficiels qu'à une masse réelle.

La distinction entre substrat original (Q_1) et la part excrétée recyclable (Q_4) ne sera souvent possible que par analyse chimique fine (détermination des poids moléculaires, solvant sélectif, etc.); une simple filtration ne permettra pas de distinguer ces deux parts dans le filtrat.

Comme déjà signalé, la résolution des équations différentielles décrivant le fonctionnement du système semble impossible et nous avons procédé à une simulation numérique, qui n'implique au départ aucune hypothèse quant aux expressions des flux.

Nous avons utilisé le modèle décrit pour deux applications distinctes. D'une part, nous avons tenté de retrouver les courbes expérimentales obtenues lors d'expériences de marquage au $^{32}\text{P-PO}_4$; d'autre part, nous avons voulu voir dans quelle mesure ce système permettrait de déterminer les constantes cinétiques d'assimilation d'un substrat limitant, toujours dans l'optique d'expériences sur le phosphate.

3.2.1. SIMULATION DE COURBES EXPÉRIMENTALES

Partie expérimentale

Dans le cadre d'une étude générale de la lagune Ebrié, lagune saumâtre de 150 km de long, située en Côte d'Ivoire par environ 5° N, nous avons procédé à diverses mesures. Entre autres, nous

avons étudié l'utilisation du phosphate; dans des échantillons de 65 ml étaient injectés environ 3.10^5 cpm de $\text{K } ^{32}\text{PO}_4\text{H}_2$ (C.E.A.); les échantillons étaient incubés, soit en lumière naturelle (de 100 à 800 W.m^{-2}), soit à l'obscurité, pendant des temps croissants (LEMASSON *et al.*, 1980).

Les courbes expérimentales obtenues (fig. 3) ont des formes variables aux diverses stations. Le type le plus fréquent, analogue à une courbe de saturation, montre une phase d'absorption rapide suivie d'une phase d'assimilation plus lente ou nulle. Ce processus biphasique est signalé dans la littérature et reçoit des explications variées (POMEROY *et al.*, 1965; TAFT *et al.*, 1975; LEAN et NALEWAJKO, 1976). Une troisième phase, de décroissance de la radioactivité particulaire, peut se produire (station I du 6 août 1976); cette décroissance n'est observée, nous semble-t-il, que dans des expériences de physiologie d'organismes supérieurs (ATKINS, 1973) et correspond à une ré-émission du traceur dans le milieu extérieur. La lumière a une influence variable sur l'assimilation du phosphate; il semble que les organismes déficients en phosphore ne soient pas sensibles à la lumière (st. A) et que l'éclairement n'augmente l'assimilation (st. I du 23 juillet 1976 et st. K) que si le phosphore n'est pas limitant (HARRISON *et al.*, 1977).

Simulation numérique

Une étape préliminaire a consisté à déterminer la « sensibilité » du modèle. A partir d'un ensemble arbitraire de valeurs des paramètres, nous avons établi le sens et l'amplitude des variations provoquées par la variation de chaque paramètre pris isolément.

A chaque station, nous disposons de quelques valeurs mesurées : la concentration de phosphate dans le milieu (Q_1), le phosphore particulaire (Q_2+Q_3), la biomasse (B), le phosphore organique dissous (approximativement Q_4+Q_5). Pour les autres paramètres, nous avons choisi des valeurs initiales arbitraires d'ordre de grandeur plausible et les avons modifiées progressivement afin d'ajuster les chiffres d'activité particulaire, soit la somme ($q_2+q_3+q_6$), aux données expérimentales. N'ayant pas recours à un ordinateur, nous n'avons pas eu à définir de stratégie particulière pour cette modification des valeurs. Les essais préliminaires de sensibilité ont cependant orienté notre recherche, en support des décisions fréquemment intuitives quant à la hiérarchie des divers paramètres. Pour chaque station, la recherche d'un ensemble de valeurs était considérée comme terminée lorsque l'écart maximum entre la courbe simulée et la courbe expérimentale (lissée à l'œil à partir des points individuels) était inférieur à 5 %. Les ensembles retenus pour quelques stations typiques sont rassemblés dans le tableau I.

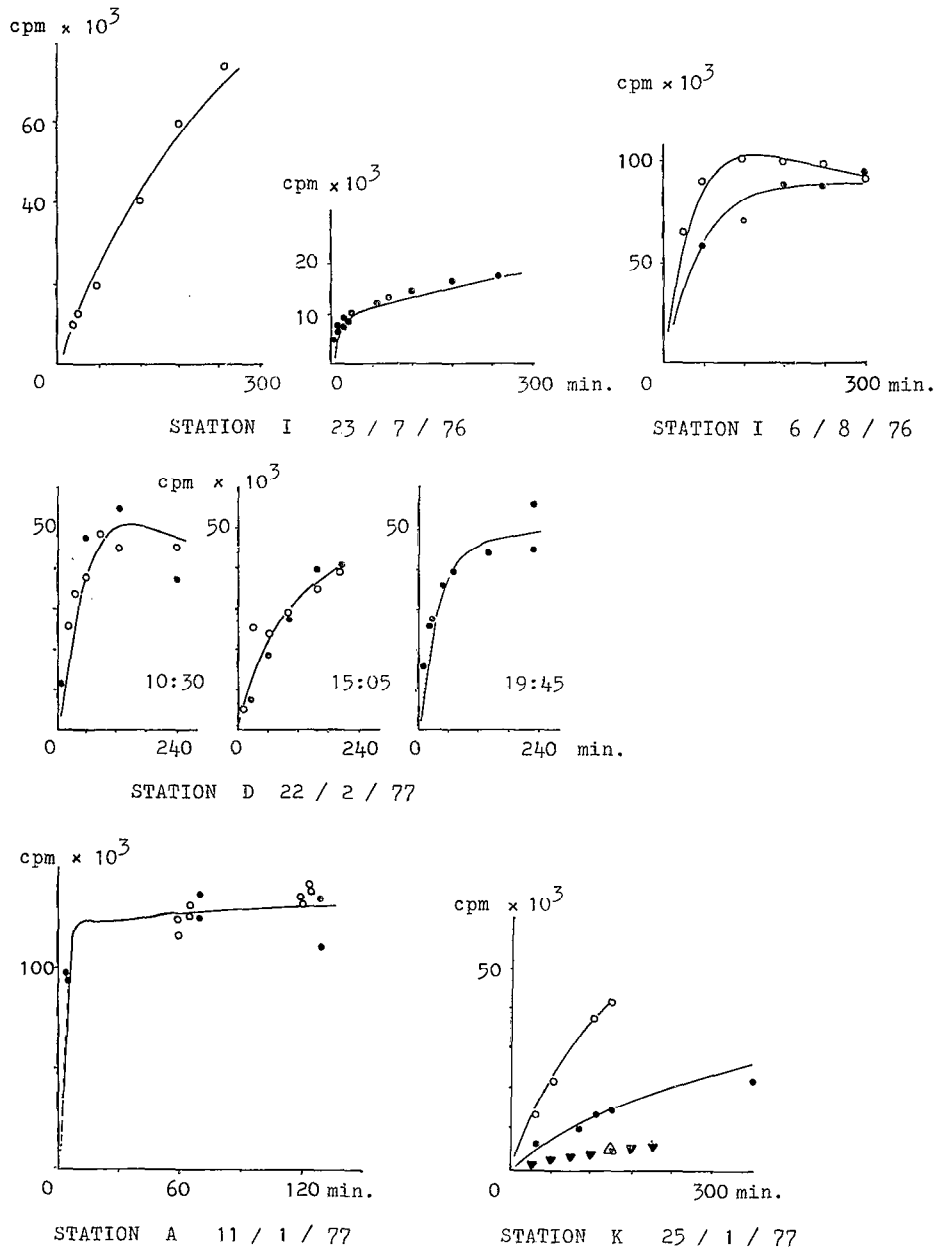


FIG. 3. — Courbes simulées (trait continu) et points expérimentaux à diverses stations. Les cercles clairs correspondent aux incubations à la lumière, les cercles pleins à celles faites à l'obscurité; les triangles de la station K représentent les témoins formolés expérimentaux (triangle clair) et simulés (triangles sombres)

Simulated curves (continuous line) and experimental points for some stations. White circles correspond to light incubations, black circles to dark incubations; triangles at station K symbolize experimental (white triangle) and simulated (black triangles) formaldehyd proofs

Le modèle permet une bonne simulation de tous les types de courbe (fig. 3). Comme déjà mentionné, un tel accord n'avait pu être obtenu avec un modèle

plus simple à trois compartiments. Quelques problèmes ont été rencontrés pour la simulation des courbes « claires » et « sombres » sans autre modi-

fication que l'éclairement; la valeur relative des paramètres C et α détermine la sensibilité de la population à la lumière. C ne peut être relié à aucune caractéristique de carence des organismes; α est analogue au coefficient défini par JASSBY et PLATT (1976), pente à l'origine de la courbe de photosynthèse en fonction de l'éclairement.

TABLEAU I

Résultats des simulations numériques pour quelques stations. Les ensembles de valeurs des différents paramètres sont obtenus par essais successifs (voir texte) et correspondent aux courbes simulées de la figure 3

Numerical simulation results for some stations. Data proceed from successive trials and correspond to simulated curves of figure 3

mesuré	D 22/2/77			K	I			A
	10:30	15:05	19:45		25/1/77	23/7/76	6/8/76	
x								
B	200	205	250	150	300	50	340	
$V \cdot 10^{-7}$	18	18	18	13	10	35	5,5	
k_{14}	0,10	0,95	0,60	1,3	0	0,1	1,0	
$k_{61,16}$	0,07	0,07	0,07	0,75	0,90	0,12	0,07	
k_{32}	0,07	0,07	0,05	0,12	0,10	0,05	0,04	
k_{42}	0,07	0,07	0,07	0,12	0	0,10	0,39	
k_{52}	0,03	0	0,025	0,05	0,05	0,10	0	
M	0,01	0,01	0,01	0,10	0,05	0,08	0,07	
m	0,001	0,001	0,001	0,02	0,02	0,03	0,03	
α	3	3	3	230	50	45	5	
q_1	0,12	0,18	0,135	0,6	2,6	1,4	0,4	
q_2	0,7	1,0	0,9	0,3	2,2	1,8	0,8	
q_3	0,65	0,5	0,71	0,3	1,6	1,4	0,5	
q_{11}	0,05	0,05	0,05	0,05	0,5	1,0	0,1	
q_5	0,01	0,01	0,01	0,05	0,5	0,1	0,01	
q_6	0,08	0,10	0,11	0,09	0,04	2,6	2,45	
K_s	0,05	0,05	0,05	0,10	0,07	0,10	0,10	
Δt	20	20	20	30	30	30	5	
C	100	100	100	80	10	250	150	
$A \cdot 10^{-4}$	35	49	36	20	73	360	12	
$V_m \cdot 10^{-3}$	84	70	104	170	259	476	597	
$B \cdot 10^{-3}$	59	55	76	146	252	444	478	

Unités — Units

- A $\mu\text{atg P.} (\mu\text{atg C})^{-1}$
- α $(\mu\text{atg P.l}^{-1} \cdot \text{W.m}^{-2})^{-1}$
- B $\mu\text{atg C.l}^{-1}$
- β $\mu\text{atg P.} (\text{l.h})^{-1}$
- C $(\mu\text{atg C.l}^{-1})^{-1}$
- Δt minutes
- k_{ij} $(\Delta t)^{-1}$
- K_s $\mu\text{atg P.l}^{-1}$
- M, m $\mu\text{atg P.} (\mu\text{atg C})^{-1}$
- V $\mu\text{atg P.l}^{-1} \cdot \Delta t^{-1}$
- V_m $\mu\text{atg P.} (\text{l.h})^{-1}$

Nous avons mentionné que le motif principal de notre essai de modélisation est la non-linéarité des assimilations en fonction du temps. On ne peut

calculer un taux que sur un intervalle de temps défini arbitrairement; pour la station I du 23 juillet 1976 (fig. 3) le problème est aisé, mais se complique pour la même station le 6 août 1976 et devient assez insoluble à la station A, puisque le taux apparent d'assimilation varie. Bien que le procédé de simulation numérique soit long, il fournit des valeurs d'assimilation (tabl. II) dans lesquelles les phénomènes parasites, et spécialement d'adsorption, sont éliminés. On remarquera que, pour les stations présentant une assimilation linéaire, les taux sont

TABLEAU II

Assimilation nette ($\mu\text{atg P.} (\text{l.h})^{-1}$)
Net uptake ($\mu\text{atg P.} (\text{l.h})^{-1}$)

	D 22/2/77			K	I		A
	10:30	15:05	19:45		25/1/77	23/7/76	
simulation	0,06	0,05	0,08	0,15	0,25	0,44	0,43
expérimental	0,04	0,03	0,06	0,10	0,19	0,34	?

du même ordre que ceux obtenus par la méthode habituelle à partir des cpm particulières, des cpm initiaux et de la concentration en phosphate du milieu (tabl. II). Les chiffres donnés par le calcul sont systématiquement plus faibles, ce qui indiquerait l'importance des phénomènes d'excrétion.

Dans tous les cas traités ici, nous n'avons pu trouver qu'un ensemble de valeurs numériques qui donne, pour chaque station, une courbe coïncidant avec les points expérimentaux. Il n'est cependant pas exclu que d'autres ensembles de chiffres existent.

3.2.2. DÉTERMINATION DES CONSTANTES CINÉTIQUES

Dans la mesure où le modèle considéré semble simuler assez bien le comportement d'un modèle réel, nous avons tenté de l'utiliser pour définir l'effet des conditions expérimentales, et surtout du temps d'incubation, sur la détermination des constantes cinétiques K_s et V_m du modèle de MONOD (1950) décrivant l'assimilation d'un substrat limitant. La vitesse d'assimilation, V, est fonction de la concentration S, de la vitesse maximum V_m et de la concentration de demi-saturation, K_s , selon

$$\text{l'expression classique : } V = V_m \frac{S}{K_s + S}$$

Nous avons considéré un système qui soit sensible à la lumière, donc avec un V_m variable, et nous avons simulé l'addition de quantités croissantes de substrat non marqué, avec une activité initiale ($q_{1(0)}$) constante. Les « incubations » ont une durée

simulée de 5 heures, avec plusieurs « prélèvements » successifs. Nous avons également simulé des « témoins formolés », en annulant tous les transferts « biologiques ».

Des valeurs arbitraires de V_m et K_s ont été fixées au départ et le système réagit en fonction de ces valeurs à la fois au cours du temps et selon les concentrations de substrat.

L'augmentation de l'activité particulière au cours du temps (fig. 4) se fait selon des courbes analogues à des courbes expérimentales obtenues dans les

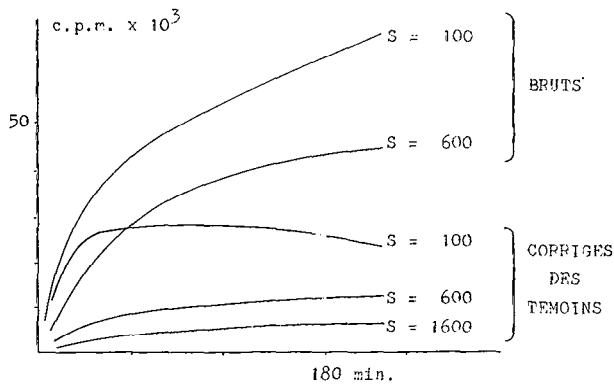


FIG. 4. — Augmentation des c.p.m. recueillis sur les filtres en fonction de la durée d'incubation avec des quantités variables de substrat ajouté, S (unités arbitraires)

Increase of filter c.p.m. versus incubation time and variable amounts of added substratum S (arbitrary units)

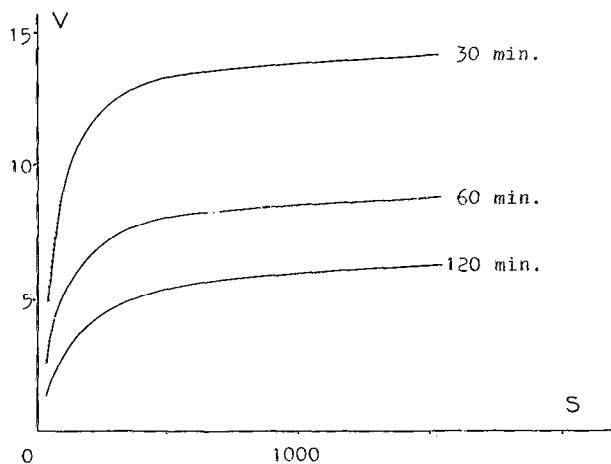


FIG. 5. — Simulation de la vitesse d'assimilation, V, et de sa croissance en fonction de la quantité de substrat ajouté, S (unités arbitraires) avec des incubations de durée variable

Uptake rate simulation (V) and uptake rate increase simulation versus amounts of added substratum S (arbitrary units) and incubation times

mêmes conditions. L'évolution de la vitesse d'assimilation en fonction de la concentration de substrat ajouté suit bien la courbe théorique, avec saturation (fig. 5). On peut remarquer que la vitesse d'assimilation, calculée sur une certaine période d'incubation, dépend de cette période; comme déjà mentionné, ce problème est la principale raison d'être du modèle considéré ici.

A partir de ces données « expérimentales », qui simulent des données réelles, nous pouvons déterminer K_s et V_m et comparer les chiffres obtenus avec les valeurs « vraies » introduites initialement. Le calcul de K_s et V_m se fait en utilisant une transformation de l'équation initiale de Michaelis-Menten; les transformations de Eadie-Hofstee, de Lineweaver-Burke et de Woolf (Dowd et Riggs, 1965) sont les plus courantes; ce sont celles que nous avons appliquées. Les « données expérimentales » de départ n'ayant, théoriquement du moins, aucune imprécision, nous n'avons utilisé aucune des méthodes d'approche décrites pour des données expérimentales réelles (Wilkinson, 1961; Sakoda et Hiromi, 1976).

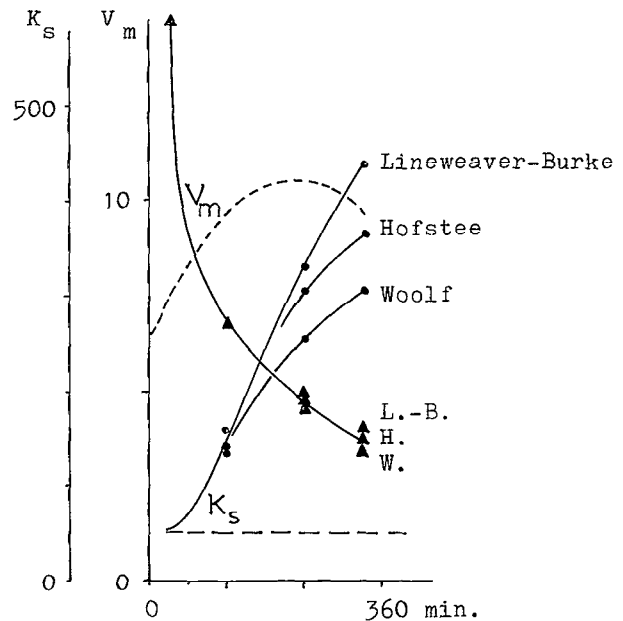


FIG. 6. — Simulation de la variation des valeurs calculées de V_m (triangles) et de K_s (cercles) en fonction de la durée d'incubation (voir texte). En pointillé, les valeurs « vraies » de K_s , constant, et de V_m , dépendant de la lumière et donc variable. Calculs effectués par trois transformations: Lineweaver-Burke, Hofstee et Woolf

Simulation of V_m (triangles) and K_s (circles) calculated value variations versus incubation time (see text). Dashed line: "true" values of K_s (constant) and of V_m (light dependent, therefore variable). Calculations according to Lineweaver-Burke, Hofstee and Woolf transformations

La constatation principale est que les valeurs de K_s et V_m obtenues sont très variables suivant la durée de l'« incubation » (fig. 6). Ces valeurs sont, de plus, très différentes des valeurs « vraies » introduites au départ. Cela remettrait en cause le principe même de la détermination des constantes cinétiques et une vérification expérimentale de cette conclusion théorique serait souhaitable.

Une remarque subsidiaire peut être faite. Dowd et Riggs (1965) ont montré que les trois transformations citées, et employées ici, sont sensibles à différents types d'erreur sur les données expérimentales. Nous voyons que ces transformations donnent des résultats assez différents pour K_s , même sur des chiffres théoriquement sans erreur expérimentale (fig. 6).

4. CONCLUSION

L'évolution non-linéaire de la radioactivité particulaire entraîne une série de problèmes ardues pour définir, et déterminer, des taux de transfert. L'existence de plusieurs systèmes de transport a été

signalée (WALLEN, 1973), des processus de diffusion et une cinétique de type Michaelis-Menten pouvant agir alternativement suivant la concentration du substrat même pour une population axénique. Notre modèle inclut deux des systèmes possibles, agissant simultanément. Il faut cependant rappeler qu'une population mixte ne suit pas toujours une cinétique de type Michaelis-Menten.

Nous avons pu tenir compte des processus d'adsorption; si nous admettons que les valeurs obtenues pour des expériences réelles sont une approximation raisonnable des valeurs réelles, nous voyons que les processus non biologiques peuvent avoir plus de poids que les processus actifs, biologiques, au moins pour certains échantillons en début d'incubation. Des incubations courtes n'auraient de ce fait pas de valeur particulière sans de bons témoins; il semble cependant qu'il n'existe pas de solution générale au problème de stopper toute activité biologique sans dommage ou modification des cellules.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.,
le 13 mai 1982

BIBLIOGRAPHIE

- AARONSON (S.), 1978. — Excretion of organic matter by phytoplankton in vitro. *Limnol. Oceanogr.*, 23 (4) : 838.
- ATKINS (G. L.), 1973. — Modèles à compartiments multiples pour les systèmes biologiques. Gauthier-Villars (Paris), 181 p.
- BERMAN (M.) and SCHOENFELD (R.), 1956. — Invariants in experimental data on linear kinetics and the formulation of models. *J. appl. Phys.*, 27 (11) : 1361-1370.
- BERMAN (T.) and SKYRING (G. W.), 1979. — Phosphorus cycling in aquatic microorganisms studied by phased uptake of ^{32}P and ^{33}P . *Curr. Microbiol.*, 2 (1) : 47-49.
- BERNHARD (M.) and ZATTERA (A.), 1975. — Radiotracer experiments with phytoplankton. In: Design of radiotracer experiments in marine biological systems., I.A.E.A. (Vienna) Technical Report Series, 167 : 35-62.
- BERNHARD (M.), BRUSCHI (A.) and MÖLLER (F.), 1975. — Use of compartmental models in radioecological laboratory studies. *Ibid.*: 241-289.
- BROWN (E. J.), HARRIS (R. F.) and KOONCE (J. F.), 1978. — Kinetics of phosphate uptake by aquatic microorganisms. Deviations from a simple Michaelis-Menten equation. *Limnol. Oceanogr.*, 23 (1) : 26-34.
- CAPERON (J.), 1968. — Population growth response of *Isochrysis galbana* to nitrate variations at limiting concentrations. *Ecology*, 49 (5) : 866-871.
- CHISHOLM (S. W.) and STROSS (R. G.), 1976. — Phosphate uptake kinetics in *Euglena gracilis* grown on light/dark cycles. II : Phased PO_4 -limited cultures. *J. Phycol.*, 12 (2) : 217-222.
- CONOVER (R. J.) and FRANCIS (V.), 1973. — The use of radioactive isotopes to measure the transfer of materials in aquatic food chains. *Mar. Biol.*, 18 (4) : 272-283.
- CROWE (A.) and CROWE (A.), 1969. — Mathematics for biologists. Academic Press (London), 303 p.
- DOWD (J. D.) and RIGGS (D. S.), 1965. — A comparison of estimates of Michaelis-Menten kinetic constants from various linear transformations. *J. Biol. Chem.*, 240 : 863-869.
- DROOP (M. R.), 1974. — The nutrient status of algal cells in continuous culture. *J. mar. biol. Assoc. U. K.*, 54 (3) : 825-855.
- EPPLEY (R. W.), RENGER (E. H.), VENRICK (E. L.) and MULLIN (M. M.), 1973. — A study of plankton dynamics and nutrient cycling in the central gyre of the North Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 18 (4) : 534-551.
- FAUST (M. A.) and CORRELL (D. L.), 1976. — Comparison of

- bacterial and algal utilization of orthophosphate in an estuarine environment. *Mar. Biol.*, 34 (2) : 151-162.
- FOGG (G. E.), NALEWAJKO (C.) and WATT (W. D.), 1965. — Extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Proc. R. Soc. (London), ser. B*, 162 : 157-534.
- GOLDMAN (J. C.), 1977. — Steady state growth of phytoplankton in continuous culture : Comparison of internal and external nutrient equations. *J. Phycol.*, 13 (1) : 251-258.
- GUNATILAKA (A.), 1978. — Role of seston in the phosphate removal in Neusiedler Sec. *Verh. internat. Verein. Limnol.*, 20 (2) : 986-991.
- HARRISON (W. G.), AZAM (F.), RENGER (E. H.) and EPPLEY (R. W.), 1977. — Some experiments on phosphate assimilation by coastal marine plankton. *Mar. Biol.*, 40 (1) : 9-18.
- HELLEBUST (J. A.), 1970. — The uptake and utilization of organic substances by marine phytoplankters. In: Organic matter in natural waters (Univ. Alaska, 1968), ed. D. W. Wood : 225-256.
- HOBIE (J. E.) and WRIGHT (R. T.), 1965. — Bioassay with bacterial uptake kinetics : glucose in freshwater. *Limnol. Oceanogr.*, 10 (3) : 471-474.
- HOBSON (L. A.), MORRIS (W. J.) and PIQUET (K. T.), 1976. — Theoretical and experimental analysis of the ¹⁴C technique and its use in studies of primary production. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 33 (8) : 1715-1721.
- JASSBY (A. D.) and PLATT (T.), 1976. — Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 21 (4) : 540-547.
- LEAN (D. R. S.) and NALEWAJKO (C.), 1976. — Phosphate exchange and organic phosphorus excretion by freshwater algae. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 33 (6) : 1312-1323.
- LEHMAN (J. T.), BOTKIN (D. B.) and LIKENS (G. E.), 1975. — The assumptions and rationales of a computer model of phytoplankton population dynamics. *Limnol. Oceanogr.*, 20 (2) : 343-364.
- LEMASSON (L.), PAGES (J.) and CREMOUX (J.-L.), 1980. — Inorganic phosphate uptake in a brackish tropical lagoon. *Est. coast. mar. Sci.*, 11 : 547-561.
- MAC ISAAC (J. J.) and DUGDALE (R. C.), 1969. — The kinetics of nitrate and ammonia uptake by natural populations of marine phytoplankton. *Deep Sea Res.*, 16 (1) : 45-57.
- MONOD (J.), 1950. — La technique de culture continue. Théorie et applications. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*, 79 : 390-410.
- NALEWAJKO (C.) and LEAN (D. R. S.), 1978. — Phosphorus kinetics — algal growth relationships in hatch cultures. *Mill. internat. Verein. Limnol.*, 21, : 184-192.
- NELSON (D. M.) and GOERING (J. J.), 1978. — Assimilation of silicic acid by phytoplankton in the Baja California and northwest Africa upwelling systems. *Limnol. Oceanogr.*, 23 (3) : 508-517.
- OVERMAN (A. R.) and CHU (R. L.), 1977. — A kinetic model of steady state phosphorus fixation in a batch reactor. I : Effect of soil-solution ratio. *Water Res.*, 11 (9) : 771-776.
- PAGES (J.), LEMASSON (L.) and DUFOUR (P.), 1981. — Primary production measurement in a brackish tropical lagoon. I : Effect of light, as studied at some stations by the ¹⁴C method. *Rev. Hydrobiol. trop.*, 14 (1) : 3-15.
- POMEROY (L.), SMITH (F. E.) and GRANT (C. M.), 1965. — The exchange of phosphate between estuarine water and sediment. *Limnol. Oceanogr.*, 10 (2) : 167-172.
- ROBERTSON (J. S.), 1957. — Theory and use of tracers in determining transfer rates in biological systems. *Physiol. Rev.*, 37 (2) : 133-154.
- SAKODA (M.) and HIROMI (K.), 1976. — Determination of the best-fit value of kinetic parameters of the Michaelis-Menten equation by the method of least squares with the Taylor expansion. *J. Biochem.*, 80 (3) : 547-555.
- SAKSHAUG (E.) and HOLM-HANSEN (O.), 1977. — Chemical composition of *Skeletonema costatum* and *pavlova lutheri* as function of nitrate, phosphate and iron-limited growth. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 29 (1) : 1-34.
- SEBETICH (M. J.), 1975. — Phosphorus kinetics of freshwater microcosms. *Ecology*, 56 (6) : 1262-1280.
- SHIPLEY (R. A.) and CLARK (R. E.), 1972. — Tracer methods for in-vivo kinetics. Academic Press (New York), 239 p.
- SOLOMON (A. K.), 1953. — Kinetics of biological processes. Special problems connected with the use of tracers. *Adv. biol. med. Phys.*, 3 : 65-97.
- STEEMAN NIELSEN (E.), 1951. — Measurement of production of organic matter in the sea by means of carbon-14. *Nature (London)*, 167/4252 : 684-685.
- TAFT (J. L.), TAYLOR (W. R.) and MCCARTHY (J. J.), 1975. — Uptake and release of phosphorus by phytoplankton in the Chesapeake Bay estuary, U.S.A. *Mar. Biol.*, 33 (1) : 21-32.
- THORNE (M. C.), 1977. — Theoretical aspects of the distribution and retention of radionuclides in biological systems. *J. theor. Biol.*, 65 : 743-754.
- TILMAN (D.), 1977. — Resource competition between planktonic algae : an experimental and theoretical approach. *Ecology*, 58 (2) : 338-348.
- VACCARO (R. F.), 1969. — The response of natural microbial populations in seawater to organic enrichment. *Limnol. Oceanogr.*, 14 (5) : 726-735.
- WALLEN (D. G.), 1973. — Kinetics of amino-acid influx in *Nitella flexilis*. *J. Phycol.*, 9 (2) : 148-152.
- Océanogr. trop.* 17 (2) : 145-154 (1982).

WILKINSON (G. N.), 1961. — Statistical estimations in enzyme kinetics. *Biochem. J.*, 80 : 324-332.

WILLIAMS (P. J. Le B.), 1973. — The validity of the application of simple kinetic analysis to heterogeneous

microbial populations. *Limnol. Oceanogr.*, 18 (1) : 159-165.

WRIGHT (R. T.) and HOBBIÉ (J. E.), 1965. — The uptake of organic solutes in lake water. *Limnol. Oceanogr.*, 10 (1) : 22-28.