

L'ADÉNOSINE TRIPHOSPHATE (ATP) DANS LE DÔME DE GUINÉE DISTRIBUTION VERTICALE ET SIGNIFICATION ÉCOLOGIQUE

ALAIN HERBLAND ET JEAN PAGES

Océanographes biologistes de l'O.R.S.T.O.M., C.R.O. BP V 18 Abidjan (Ivory Coast)

RÉSUMÉ

La distribution verticale de l'ATP dans le dôme de Guinée est étudiée et comparée à celle de la chlorophylle « a » (Chla), du phosphore particulaire (Pp) et des copépodites.

Les mesures d'ATP ont été faites en triple exemplaire, le Cv moyen est de 18,4 %.

Le maximum d'ATP se trouve dans la thermocline, là où la Chla et le Pp sont également maximum. A ce niveau il y a une corrélation significative entre l'ATP et la Chla ($r = 0,69$) et entre l'ATP et le Pp ($r < 0,82$). Il n'y a pas de corrélation significative dans la couche homogène et sous la couche euphotique ($r = 0,35$).

La distribution du rapport ATP/Chla montre qu'il y a relativement plus d'organismes non chlorophylliens dans la couche homogène que dans la thermocline.

Au niveau du maximum d'ATP, il y a relativement peu de détritus.

ABSTRACT

The vertical distribution of adenosine-tri-phosphate (ATP) in the Guinea Dome is studied and compared to chlorophyll (Chla), particulate phosphorus (Pp) and copepodites distributions.

ATP measurements have been done in triplicates. The mean coefficient of variation is 18,4 %.

The ATP maximum is located in the thermocline layer, where Chla and Pp are maximum. There is a good linear coefficient of correlation between ATP and Chla ($r = 0,69$) and between ATP and Pp ($r = 0,82$) in the thermocline. There is no correlation in the mixed layer and below the euphotic layer. ($r < 0,35$).

The distribution of the ratio ATP/Chla shows relatively more non-chlorophyllians organisms in the mixed layer than in the thermocline layer. The copepodites and Pp data show that it is microzooplankton rather than dead particles.

At the ATP maximum level, there are relatively few detritus.

INTRODUCTION

Le dôme de Guinée, mis en évidence par MAZEIKA (1967) se situe sur la bordure est de l'océan Atlantique, entre le courant des Canaries et le contre-courant équatorial. La thermocline, peu profonde et bien éclairée, est le siège d'une production importante (environ $1\text{gC}/\text{m}^2/\text{j}$) ce qui lui donne un caractère exceptionnel dans l'Atlantique tropical (VOITURIEZ et DANDONNEAU, 1974). Il n'y a pas qualitativement de différences entre la structure verticale de

l'ensemble des océans tropicaux et celle du dôme de Guinée. Les dômes constituent donc une zone d'étude privilégiée des structures tropicales, car l'importance de la production biologique maintient les biomasses à un niveau élevé, condition nécessaire, dans l'état actuel des techniques, pour l'étude des échanges biologiques (assimilation, excrétion, respiration) responsables des variations des biomasses et des stocks des différentes formes organiques et minérales.

La mesure de l'adénosine tri-phosphate (ATP) introduite en océanographie par HOLM-HANSEN et

BOOTH (1966) est attrayante, car l'ATP est une substance spécifique de la matière vivante. Très vite après la mort, elle se transforme en adénosine diphosphate (ADP) qui n'interfère pas dans la technique de mesure de l'ATP. De plus, l'ATP étant l'intermédiaire majeur dans tous les processus de transfert d'énergie, constituant un réservoir d'énergie utilisable par les réactions endergoniques, son taux dans les cellules est relativement constant (HAMILTON et HOLM-HANSEN, 1967; HOLM-HANSEN, 1970). On peut ainsi espérer par sa mesure estimer de façon satisfaisante la quantité de « carbone vivant ». Cependant étant donné sa présence universelle dans les cellules végétales et animales, il demeure nécessaire, pour préciser la nature de la matière vivante, de mesurer simultanément d'autres paramètres.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'eau a été prélevée avec une bouteille Niskin de 30 litres en PVC, puis tamisée sur des soies de 200 μ de vide de maille. Les copépodes et copépodites récoltés sur les soies ont été immédiatement comptés sous une loupe binoculaire. La chlorophylle « a » a été mesurée par la technique recommandée par l'UNESCO (1966) et le phosphore particulaire par la méthode de MENZEL et CORWIN (1965) par oxydation au persulfate.

La méthode employée pour mesurer l'ATP est une adaptation de celle mise au point par HOLM-HANSEN et BOOTH (1966). Pour les niveaux de la couche homogène et de la thermocline trois fois 2 litres d'eau ont été prélevés, et pour les niveaux inférieurs, 2 fois 4 litres. L'eau a été filtrée avec un dispositif

tion était inférieure à 150 mm Hg. Moins de 5 secondes après la fin de la filtration, le filtre a été placé dans un bûcher de 50 mm de diamètre intérieur et recouvert immédiatement par 6 ml de tampon tris bouillant (0.02N, pH 7,75). Pour diminuer l'évaporation les bûchers étaient couverts avec des boîtes de pétri. L'extraction durait 5 mn, sur bain de sable. L'extrait était transvasé dans un tube à essai et à nouveau 5 ml de tampon tris bouillant étaient versés sur le filtre. Après 2 minutes le filtre était essoré avec

Les extraits d'abdomen de lucioles (Sigma chemical Co) ont été stockés à -20°C avant d'être utilisés. Ils ont été hydratés avant la mesure avec 5 ou 6 ml de tampon tris autoclavé. La suspension était secouée énergiquement puis laissée à décanter pendant une heure. Immédiatement avant l'utilisation elle était centrifugée à 1000 g pendant 5 minutes. La réaction lumineuse a été mesurée avec un spectromètre à scintillation liquide (Inter-technique SL 30)

dans des fioles à scintillation non modifiées. Des volumes égaux (0,2 ml) d'enzyme et de solution standard ou d'extrait ont été mélangés. La lecture des photons émis ne commence que 10 secondes après le mélange et était arrêtée automatiquement au bout de 60 secondes. Avec des solutions standard, réalisées à partir d'ATP sous forme de sel sodique (Sigma chemical Co), la relation entre la concentration en ATP et l'intensité de l'émission lumineuse est linéaire en coordonnées log-log entre 2.10^{-3} et 5.10^{-2} μg ATP/ml. Pour des concentrations inférieures à 2.10^{-3} μg ATP/ml le bruit de fond dû au complexe enzymatique lui-même, masque la teneur en ATP des échantillons. Pour des concentrations supérieures à 5.10^{-2} μg ATP/ml il y a saturation de l'appareil, les énergies lumineuses émises étant beaucoup trop fortes comparées à celles pour lesquelles il est conçu. De ce fait, certains échantillons ont dû être dilués afin de se retrouver dans une gamme de concentrations satisfaisantes.

A chaque station un blanc de filtre était réalisé afin d'évaluer en moyenne la quantité de matière vivante qui aurait pu se trouver sur les filtres. Les résultats montrent que les filtres ne contiennent pas de matière vivante ou de substance interférant dans la réaction.

Pour chaque série d'échantillons (entre 16 et 18), correspondant à une station, une courbe d'étalonnage est réalisée afin de mesurer la décroissance de l'activité du complexe enzymatique. En fait cette décroissance est très variable d'un « batch » à l'autre; le rythme d'analyse était approximativement de 40 échantillons par heure, jamais plus de 3 séries ont été analysées avec la même solution de luciférine-

déroulée en 2 parties. La première partie a consisté en 2 radiales perpendiculaires se coupant au centre présumé du dôme (fig. 1). La seconde a été un point fixe de 5,5 jours dans la région centrale du dôme.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

La mise en évidence du dôme de Guinée, et l'étude de la structure hydrologique et de la dynamique de l'écosystème thermocline dans le dôme ont fait

DARBOVILLE, 1974). On ne s'attachera dans cette étude qu'à la distribution verticale de l'ATP en relation avec celle d'autres paramètres biologiques, dans le but de dégager l'information complémentaire que la mesure de l'ATP apporte et ainsi d'apprécier son intérêt.

2.1. Variabilité des mesures

Avec des solutions standards d'ATP (qui ne

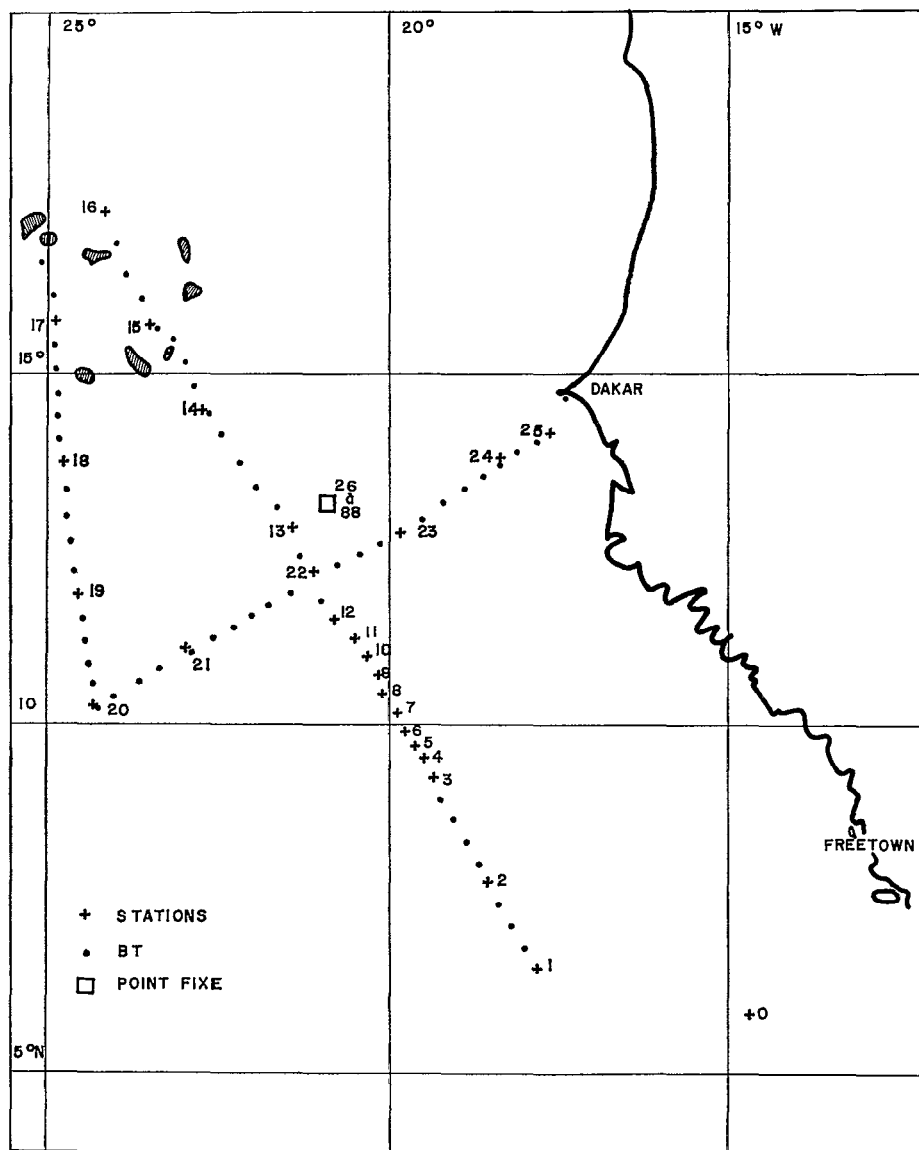


Fig. 1. — Position des stations lors de la campagne 7313 du N.O. «CAPRICORNE» dans le dôme de Guinée. BT = Bathylthermogramme.

contiennent pas de particules), le coefficient de variation moyen C_v ($C_v = m/\sigma$ avec m = moyenne et σ = écart-type) vaut 8,8 %. Cette variabilité assez forte s'explique par la manière de mesurer la réaction lumineuse. L'incertitude porte sur plusieurs points : la précision des volumes mélangés, la façon dont le mélange s'effectue, la précision du délai (10 s) avant que le comptage des photons ne commence. Toutes ces opérations ont été réalisées manuellement et ne sont par conséquent pas exactement reproductibles.

Chaque prélèvement dans la couche homogène et

dans la thermocline a été réalisé en 3 exemplaires ce qui permet d'évaluer la précision des mesures. Le C_v a une valeur moyenne de 18,4 % (sur 33 triplicata) variant entre 2 et 50 % (tableau 1). Il y aurait donc en moyenne une erreur de 10 % pour les techniques « en amont » de la mesure de la réaction lumineuse : hétérogénéité spatiale des cellules dans l'échantillon, pertes plus ou moins importantes à la filtration, destruction variable de l'ATP par l'ATP-ase entre le moment où le filtre est à sec et celui où il est recouvert de tampon tris bouillant, et enfin extraction plus ou

moins complète de l'ATP suivant les organismes en présence. On a pensé que quelques organismes du zooplancton pouvaient passer accidentellement au travers de la soie de 200 µm et provoquer de fortes variations étant donné leur biomasse importante comparée à celle du phytoplancton. Pour tester cette hypothèse, des dosages complémentaires ont été effectués au cours d'une campagne dans la zone équatoriale. Les échantillons étaient simultanément filtrés sur 200, 100, 50 et 0,3 µm. Nous n'avons pas trouvé une diminution du Cv pour l'ATP des orga-

a 50 µm étaient éliminés. Le zooplancton de taille importante passant au travers des soies ne serait donc pas responsable de la variabilité des résultats.

TABLEAU I

St.	P m	A.T.P. ng/l				Cv %	C µg l ⁻¹
		1	2	3	m		
1	0	155	220	185	186	14,3	465
	45	200	87	175	154	31,4	471
	55	100	135	140	125	14,2	312
	70	112	47	67	57	—	142
	90	112	15	—	15	—	37
	120	50	47	—	48	—	121
3	0	190	165	127	161	16,0	402
	25	225	120	245	197	27,8	587
	35	210	250	165	208	16,7	520
	45	300	370	435	368	15,0	920
	60	175	195	—	185	—	463
	100	65	92	—	78	—	196
02	0	275	290	220	261	9,1	652
	15	275	250	220	248	9,3	620
	25	250	360	540	383	31,2	762
	35	475	540	540	518	5,9	1295
	50	186	215	—	200	—	502
	100	120	75	—	97	—	244
14	0	52	85	100	79	25,4	231
	15	100	300	220	206	39,9	400
	25	170	175	180	175	2,3	437
	35	170	290	325	262	25,4	769
	50	55	92	—	73	—	193
	100	72	50	—	61	—	152
20	0	160	210	320	230	29,0	462
	20	230	295	370	300	14,7	750
	35	275	280	320	292	6,9	730
	55	130	160	180	156	13,2	371
	70	115	280	—	198	—	287
	100	180	215	—	198	—	500
22	0	200	72	75	116	52,9	184
	15	250	235	180	222	13,5	555
	35	275	170	90	222	—	555

St.	P m	A.T.P. ng/l				Cv %	C µg l ⁻¹
		1	2	3	m		
	50	160	20	100	130	—	325
	65	150	200	—	175	—	437
	120	110	135	—	122	—	306
24	0	90	170	230	163	35,2	500
	15	165	210	180	188	10,1	470
	50	150	110	—	130	—	325
	65	150	110	—	110	—	275
	100	110	110	—	110	—	275
35	0	150	210	110	157	26,2	325
	25	185	270	175	210	20,2	450
	35	435	558	320	434	21,6	1085
	55	175	160	155	163	5,2	407
	70	33	57	—	45	—	112
	100	37	29	—	33	—	82
50	0	125	42	—	83	—	209
	15	110	60	—	85	—	212
	20	370	350	—	360	—	900
	25	650	650	—	650	—	1625
	30	750	—	—	—	—	1870
	35	285	320	—	302	—	755
	45	62	90	—	76	—	190
	55	28	24	—	26	—	65
	60	46	45	—	45	—	114
	70	43	115	—	79	—	107
	100	17	32	—	24	—	61
	71	0	160	155	—	157	—
15		300	155	—	227	—	387
20		110	42	—	76	—	275
25		260	345	—	302	—	755
30		410	435	—	422	—	1055
35		600	670	—	635	—	1587
45		165	185	—	175	—	437
50		130	175	—	152	—	380
55		135	160	—	147	—	369
60		360	110	—	235	—	275
82	0	225	275	180	227	17,1	570
	25	290	260	220	257	11,2	642
	35	650	700	650	666	3,5	1665
	50	300	280	220	267	12,7	670
	75	125	49	—	87	—	217
	100	82	62	—	72	—	180

Résultats des mesures d'ATP dans le dôme de Guinée.

(St = station ; P = profondeur ; m = moyenne ; Cv = coefficient de variation ; C = carbone, obtenu en multipliant l'ATP par 250).

2.2. Distribution verticale de l'ATP

L'ensemble des résultats est exprimé dans le tableau 1.

En zone tropicale, l'immersion de la thermocline et la valeur de son gradient commandent la distribution et dans une large mesure l'importance des biomasses planctoniques. Dans le dôme de Guinée, la thermocline se rapproche de la surface avec des gradients de plus en plus élevés de la périphérie vers le centre.

Pour étudier la distribution verticale des différents paramètres en relation avec l'ATP, nous avons défini trois couches :

1. — La couche homogène (CH) de la surface au début du gradient thermique
2. — La couche thermoclinale (CT) où le gradient thermique est élevé
3. — La couche profonde (CP) où la lumière est inférieure au 1 % de la lumière incidente

Les concentrations respectives en ATP de ces trois couches sont : ATP (CH) = 176 ng/l, ATP (CT) = 278 ng/l et ATP (CP) = 100 ng/l. Les différences entre ces trois valeurs sont hautement significatives

La conversion de l'ATP en carbone est, sinon nécessaire, du moins préférable pour comparer quantitativement sa distribution à celle des autres paramètres biologiques. Le taux d'ATP par cellule est relativement constant chez les algues unicellulaires en culture et dans la phase stationnaire et celle de vieillissement (DAUMAS, 1973).

Si l'on postule que le stress subi par les cellules prélevées à une certaine profondeur quand on les amène sur le pont à une température et à un éclairage différents ne modifie pas la teneur en ATP (HOLM-HANSEN, 1970, a montré que des variations brusques de l'éclairage modifient la teneur en ATP) et que dans la masse d'eau le nombre des cellules en bonne santé est très important par rapport à celui des cellules sénescents, on aura une estimation satisfaisante de la teneur en « carbone vivant » en multipliant les valeurs d'ATP par 250 (HOLM-HANSEN, 1970).

2.3. ATP, chlorophylle et zooplancton

Sur l'ensemble des échantillons, la valeur moyenne du rapport ATP \times 250/Chla (exprimé en poids) vaut 176. Cela est très proche de la valeur de 180 trouvée par EPPLEY *et al.* (1973) dans les eaux oligotrophes du Pacifique central.

Dans les trois couches définies plus haut (CH, CT, CP) le rapport moyen ATP \times 250/Chla vaut respectivement 285, 112 et 113. Les différences entre la première valeur et les deux autres sont hautement

significatives (test, *t*, $P > 99\%$). Ces différences signifient que dans la couche homogène, il y a relativement aux autres couches, plus de matière vivante non chlorophyllienne. Il s'agit certainement de microzooplancton passant à travers les soies de 200 μm . Les résultats de BEERS and STEWART (1969 a et b) ont montré qu'à des stations océaniques, avec une couche homogène chaude (26 °C) et une thermocline marquée, donc dans une situation semblable à la nôtre, la majorité du microzooplancton (200 μm) se trouvait dans la thermocline. En fait, ces résultats ne sont pas contradictoires : à la station fixe les valeurs maximales de la chlorophylle dans la couche homogène et dans la thermocline valent respectivement 0,3 et 3 $\mu\text{g/l}$, elles varient donc dans un rapport de 1 à 10. Le nombre des copépodes retenus sur 200 μm varient de 16 à 30 par m^3 , donc dans un rapport de 1 à 2 (fig. 2). Il y a bien un maximum de zooplancton dans la thermocline, conformément aux résultats de BEERS et STEWART mais ce maximum est moins accusé que celui de la chlorophylle et par conséquent, la couche homogène est relativement plus riche en microzooplancton qu'en phytoplancton que la thermocline, comme le suggèrent les valeurs du rapport ATP \times 250/Chla.

Les coefficients de corrélation linéaire entre ATP et la chlorophylle sont les suivants : couche homogène $r_1 = 0,44$; Thermocline $r_2 = 0,69$; Couche profonde $r_3 = 0,33$. C'est dans la thermocline que les valeurs d'ATP et de chlorophylle sont les mieux corrélées. Ce résultat confirme la prépondérance de la biomasse phytoplanctonique dans la thermocline.

2.4. ATP et phosphore particulaire

A défaut de mesures de carbone particulaire, qui seraient plus représentatives de la biomasse organique, on prendra le phosphore particulaire comme référence de l'abondance des particules (mortes et vivantes).

Sur l'ensemble des échantillons, la valeur moyenne du rapport (ATP \times 250)/Pp (en atomes) vaut 64. Au niveau du maximum d'ATP, il vaut 100,0 ($\sigma = 28,4$). C'est une valeur proche de 106, valeur moyenne du rapport C/P (en atomes) dans le plancton (FLEMING, 1940). Si toute la matière particulaire était vivante, on devrait trouver un rapport (ATP \times 250) / Pp (en atomes) = 106, à condition que la relation ATP \times 250 donne une bonne expression du « carbone vivant », et que les organismes présents dans l'eau aient la constitution avancée par FLEMING. La valeur de 100,0 n'est pas significativement différente de 106; il est donc probable qu'au niveau du maximum d'ATP nous ayons à la fois peu de matière particulaire détritique, et une confirmation de l'équation Carbone vivant = ATP \times 250 (en poids).

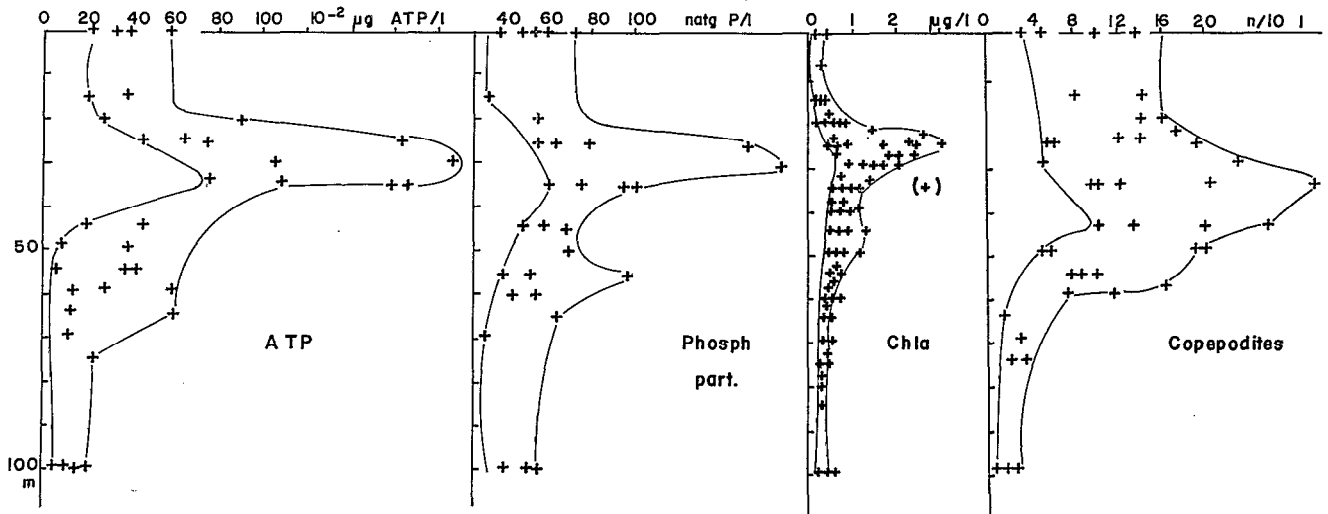


Fig. 2. — Distribution verticale au point fixe (station 26 à 88) de l'ATP, du phosphore particulaire, de la chlorophylle « a » et des copépodites.

Dans les trois couches définies plus haut (CH, CT, CP) les rapports moyens $(ATP \times 250) / Pp$ (en atomes) valeur respectivement 71,6, 80,9 et 42,1. Ils sont inférieurs au rapport dans le maximum d'ATP, ce qui confirme l'hypothèse sur le faible taux de carbone détritique à ce niveau. Dans la couche profonde, le rapport est faible, signifiant que la part des détritiques est importante. Dans les trois couches les coefficients de corrélation linéaire sont les suivants : couche homogène $r_1 = 0,31$; couche thermoclinale $r_2 = 0,82$, couche profonde $r_3 = 0,32$. Comme pour la chlorophylle, c'est dans la zone thermoclinale que la corrélation est la meilleure.

CONCLUSION

(1) — La distribution verticale de l'ATP dans le dôme de Guinée est en accord avec celle des autres paramètres. Il y a un maximum dans la thermocline, là où les autres paramètres (chlorophylle, phosphore particulaire, copépodites) ont aussi leur maximum (fig. 2). Elle confirme que la thermocline du dôme de Guinée est riche en matière vivante puisque les valeurs dépassent souvent 300 ng ATP/l (tableau 1), ce qui est élevé pour une région océanique (voir pour comparaison les valeurs trouvées par Hobbie *et al.* 1972 et Holm-Hansen 1969, dans la couche euphotique d'autres régions océaniques).

(2) — Les valeurs moyennes du rapport ATP/Chla permettent de déduire que la couche homogène est relativement plus riche que la thermocline en

organismes non chlorophylliens. La distribution des copépodites et des valeurs du rapport $ATP \times 250 / Pp$ feraient penser qu'il s'agit de microzooplancton plutôt que de particules mortes qui auraient perdu leur chlorophylle.

(3) — Il y a dans la thermocline, au niveau du maximum d'ATP, très peu de détritiques en valeur relative, car le rapport moyen $ATP \times 250 / Pp$ (en atomes) est voisin de 106, rapport de constitution des organismes planctoniques. D'un point de vue écologique, ce résultat est important, car il signifie qu'il existe un niveau dans la thermocline, où les conditions de croissance sont telles que les transferts d'un échelon à l'autre se font avec un rendement optimum, laissant peu de déchets.

(4) — Sous la thermocline, ce même rapport est faible, indiquant que la quantité de matière vivante diminue plus vite que celle des particules.

En résumé, on peut dire que la mesure de l'ATP est utile. Elle confirme que la majorité de la matière vivante se trouve dans la thermocline, donc que l'activité biologique est concentrée à ce niveau. Pour être valablement exploitée, cette mesure doit être accompagnée de mesures de chlorophylle, de carbone particulaire total et d'évaluations du microzooplancton. La combinaison de ces 4 paramètres permettrait d'accéder alors à une meilleure compréhension de l'écosystème thermoclinial.

Manuscrit reçu au S.C.D. de l'O.R.S.T.O.M. le 13 février 1975.

BIBLIOGRAPHIE

- BEERS (J. R.) & STEWART (G. L.) (1969) a. --- The vertical distribution of microzooplankton and some ecological observation. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* Vol. 33 : 30-44.
- BEERS (J. R.) & STEWART (G. L.) (1969) b. --- Microzooplankton and its abundance relative to the larger zooplankton and other seston components. *Mar. Biol.* Vol. 4 : 182-189.
- DAUMAS (R. A.) (1973). -- Évaluation de la teneur en adénosine triphosphate des organismes marins : possibilités actuelles et limite de la méthode. *Tethys* vol. 5 : 71-80.
- EPPLEY (R. W.), EDWARD RENGER (H.), VERNICK (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.* Vol. 18 : 534-551.
- FLEMING (R. H.) (1940). -- The composition of plankton and units for reporting population and production. Proc. Sixth Pacific Sci. Cong. Calif. 1939, 3 : 535-540.
- HAMILTON (R. D.) & HOLM-HANSEN (O.) (1967). -- Adénosine triphosphate content of marine bacteria. *Limnol. Oceanogr.* Vol. 12 : 319-324.
- HOBBIE (J. E.), HOLM-HANSEN (O.), PACKARD (T. T.), POMEROY (L. R.), SHELDON (R. W.), THOMAS (J. P.) et WIEBE (W. J.) (1972). -- A study of the distribution and activity of microorganisms in ocean water. *Limnol. Oceanogr.* Vol. 17 : 544-555.
- HOLM-HANSEN (O.) (1969). -- Determination of microbial biomass in ocean profiles *Limnol. Oceanogr.* Vol. 14 : 710-717.
- HOLM-HANSEN (O.) (1970). -- ATP levels in algal cells influenced by environmental conditions *Plant. Cell Physiol.*, vol. 11 : 689-700.
- HOLM-HANSEN (O.) & BOOTH (C.) (1966). -- The measurement of Adenosine triphosphate in the ocean and its ecological significance. *Limnol. Oceanogr.* Vol. 11 : 510-519.
- MAZEIKA (P. A.) (1967). -- Thermal domes in the eastern tropical Atlantic Ocean *Limnol. Oceanogr.* Vol. 12 : 537-539.
- MENZEL (D. W.) & CORWIN (N.) (1965). -- The measurement of total phosphorus in sea water based on the liberation of organically bound fractions by persulfate oxidation. *Limnol. Oceanogr.* Vol. 10 : 280-282.
- UNESCO (1966). -- Determination of photosynthetic pigments. Report of SCOR Unesco Working group 17, Monographs on *Oceanographic methodology*.
- VOITURIEZ (B.) & DANDONNEAU (Y.) (1974). -- Relation entre la structure thermique, la production primaire et la régénération des sels nutritifs dans le dôme de Guinée. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Oceanogr.*, vol. XII, n° 4 : 241-255.