

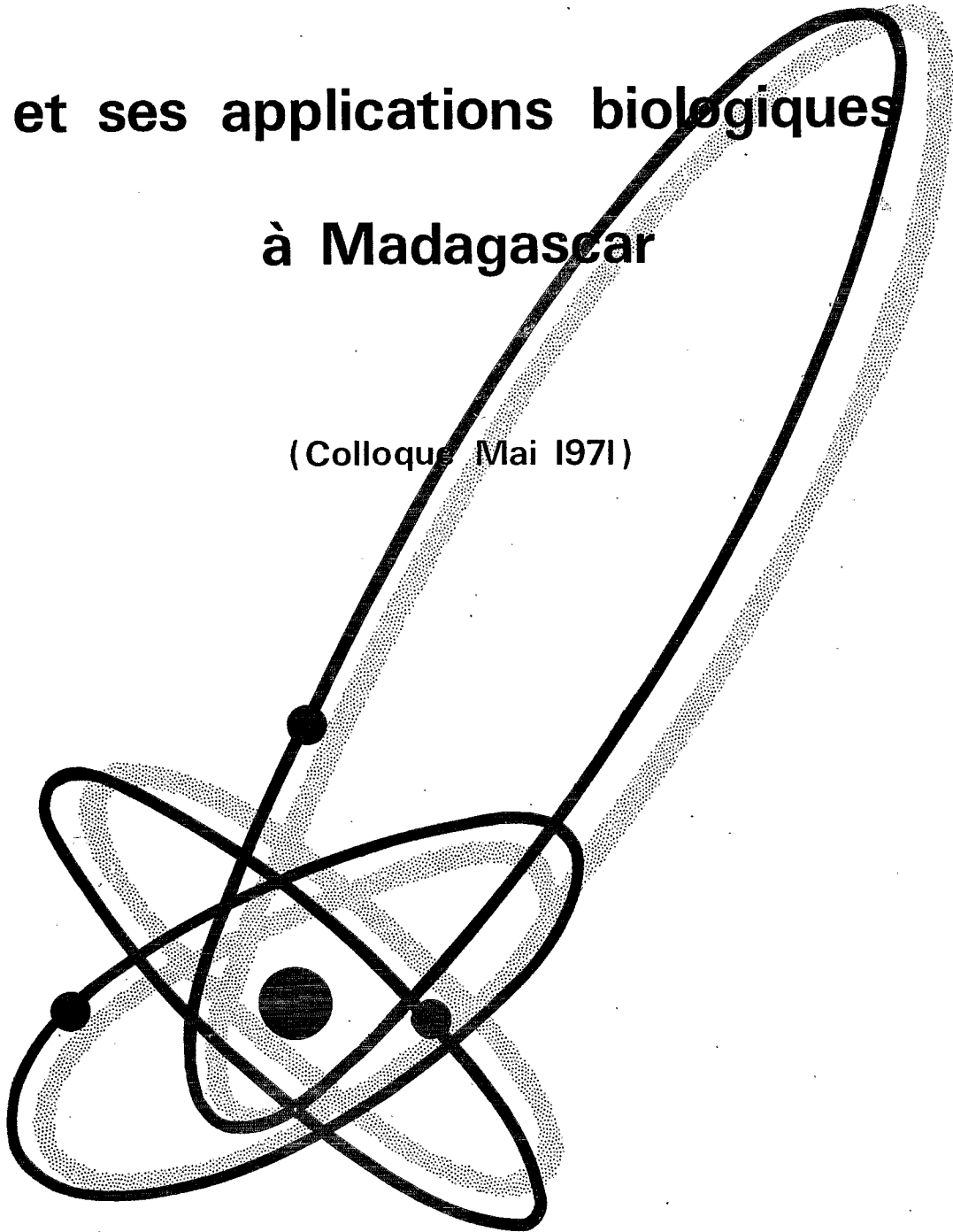
UNIVERSITE DE MADAGASCAR

Centre O. R. S. T. O. M.  
de NOSY-BE  
Contribution N° 8

Laboratoire de Radio Isotopes

**L'ENERGIE NUCLEAIRE**  
**et ses applications biologiques**  
**à Madagascar**

(Colloque Mai 1971)



Collection **TERRE MALGACHE** Spécial Numéro 12

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

*B. Foto*

# utilisation du $^{14}\text{C}$ pour l'évaluation de la production primaire dans les sédiments marins

M.R. PLANTE-CUNY

On utilise en océanographie biologique et en hydrobiologie divers radio-éléments pour l'étude de la production organique primaire :  $^{32}\text{P}$ ,  $^{65}\text{Zn}$ ,  $^{15}\text{N}$ , par exemple. Depuis une vingtaine d'années, les études sur la production due aux végétaux planctoniques ont fait largement appel au  $^{14}\text{C}$ . On trouvera dans l'article précédent, de SOURNIA, toutes informations sur les principes de la méthode, qu'il a lui-même appliquée dans les eaux côtières de Nosy-Bé.

Le rôle des microphytes des sédiments dans la production primaire marine a été longtemps méconnu. Cependant, les premières études ont prouvé que cette production, dans les zones d'estuaires notamment, était souvent supérieure, pour une unité de surface, à celle de la colonne d'eau sus-jacente (GRØNTVED 1960, WETZEL 1964, MARSHALL et *alii*). L'application de la méthode du  $^{14}\text{C}$  à des populations végétales du sédiment est assez récente et limitée à quelques travaux. C'est la raison pour laquelle l'équipement employé et les façons de procéder ne sont pas normalisées. Une des raisons du retard dans l'étude de la production primaire benthique, par rapport au domaine pélagique, réside dans le fait que la méthode de marquage au  $^{14}\text{C}$  est plus difficile à appliquer à des végétaux vivant en rapport étroit avec un substrat qu'à des végétaux libres dans l'eau. En effet, les difficultés d'utilisation du  $^{14}\text{C}$  surviennent au stade du comptage de l'élément radio-actif après assimilation. Dans le cas du phytoplancton, il s'agit de filtrer l'eau d'un flacon dans lequel des microphytes ont assimilé une certaine quantité de  $^{14}\text{C}$ . Ces microphytes sont retenus sur un filtre qui est ensuite passé au compteur d'impulsions. Les microphytes benthiques vivent dans le milieu liquide également, mais sur ou dans un sédiment - sable ou vase - auquel ils sont parfois solidement attachés. Il s'agit de mesurer la radio-activité répartie dans des cellules mêlées à des éléments inertes susceptibles de provoquer de très fortes pertes par auto-absorption.

quatre groupes d'auteurs ont résolu le problème de façon différente : GRØNTVED (Danemark), HICKMAN et ROUND (Bristol, G-B), STEELE et BAIRD (Aberdeen, G-B) utilisent le même système de mesure de la quantité de  $^{14}\text{C}$  assimilée, à savoir un compteur de type Geiger-Müller, mais ils traitent les échantillons de façons totalement différentes; le quatrième auteur, WETZEL (USA), emploie la radio-analyse en phase gazeuse (1).

(1) Dans un document multigraphié, - dont je n'ai eu connaissance que tardivement - MARSHALL expose une méthode, très proche au départ de celle de WETZEL, mais dans laquelle la mesure se fait par scintillation en phase liquide, le sédiment marqué étant préalablement broyé (MARSHALL et *alii*).

Ces quatre types de méthodes vont être exposés brièvement. L'ordre chronologique me paraît le plus simple. J'insisterai seulement sur les points qui doivent être connus pour pouvoir critiquer éventuellement le principe de l'utilisation du  $^{14}\text{C}$  et les méthodes de mesure des quantités radio-actives assimilées.

## I - METHODES

### 1 - METHODE DE GRØNTVED

GRØNTVED fut le premier (1960) à étudier, à l'aide du  $^{14}\text{C}$ , à la fois la productivité du phytoplancton et celle du microphytobenthos dans une aire marine côtière, en l'occurrence sur la côte danoise. Pour le domaine benthique, il créa une méthode que je résume ici :

A. on prélève une carotte de sédiment de un centimètre surmontée de trois centimètres d'eau.

B. on répartit dans trois flacons différents des sous-échantillons : d'eau surnageante, d'une suspension de sédiment et de microphytes dans l'eau et enfin de sédiment auquel on ajoute également de l'eau de mer.

C. on introduit du  $^{14}\text{C}$  dans les trois flacons.

D. après deux heures d'incubation en lumière naturelle au milieu du jour, les flacons étant agités tous les quarts d'heure et maintenus à une température égale à celle du fond, on filtre des sous-échantillons de 25 ml de ces trois fractions.

E. mesure : pour l'eau surnageante et la sous-fraction de suspension, on peut mesurer directement la radio-activité des filtres avec un tube de type Geiger; pour la fraction solide, (le troisième flacon) les grains de sable sont grattés du filtre. On prélève une partie que l'on étale autant que possible en une couche où les grains ne se recouvrent pas. Comme le tube de comptage n'enregistre que les impulsions venant des organismes attachés au côté des grains de sable tourné vers le haut, nous pouvons corriger la self-absorption qui se produit dans cette préparation en multipliant le nombre d'impulsions par deux (GRØNTVED 1960).

F. calcul : GRØNTVED ramène alors les divers résultats obtenus à un taux de production par unité de surface (du fond), en soustrayant la production due à l'eau surnageante.

Les résultats sont exprimés en *taux potentiel de production brute*, (*potential gross production rate*), car les expériences ne sont pas réalisées *in situ*.

En 1966, paraissaient les derniers résultats obtenus par cette méthode, car l'auteur décédait en 1967. Ses travaux devaient être repris par un élève qui vient de publier ses premiers résultats, obtenus sans grandes modifications méthodologiques (GARGAS 1970).

La méthode a été mise au point sur des fonds accessibles à pied; je lui reproche de n'être pas facilement applicable *in situ* dans des endroits plus écartés de la côte, et de nécessiter beaucoup de manipulations de l'échantillon presque irréalisables à bord d'un petit bateau, susceptibles

d'introduire des erreurs expérimentales importantes. Par ailleurs, il est difficile de dire si les corrections pour auto-absorption sont suffisantes.

## 2 - METHODE DE WETZEL

En 1964 paraissent les résultats d'un important travail réalisé par WETZEL en Californie dans un grand lac peu profond. Il s'agit d'une étude comparative de la production primaire due aux plantes aquatiques, au "périphyton" (ou microphytobenthos) et au phytoplancton.

Pour le phytoplancton, l'auteur suit la méthode classique de STEEMANN-NIELSEN. Dans le cas des macrophytes et du microphytobenthos, la méthode est nouvelle et utilise la mesure de radio-activité en phase gazeuse :

A. Des chambres cylindriques de plexiglas ouvertes à une extrémité, sont enfoncées dans le substrat marin pour englober, soit une plante aquatique, soit une portion de sédiment sur laquelle vivent des microphytes.

B. La solution de bicarbonate marqué au  $^{14}\text{C}$  est injectée à l'aide d'une seringue directement dans la chambre par un orifice spécial muni d'un bouchon.

C. L'incubation dure six heures *in situ* durant lesquelles se produit l'assimilation du  $^{14}\text{C}$  par les végétaux.

D. Ensuite, l'eau surnageante est enlevée. On congèle et on prélève le premier centimètre de sédiment; on le conserve sous vide en présence de silicagel anhydre jusqu'aux opérations suivantes.

E. Pour ôter le carbone radio-actif non assimilé par les végétaux, on expose les échantillons à des vapeurs de HCl qui permettent d'éliminer le carbone non organique sous forme de monocarbonate.

Quant au carbone organique marqué, il est transformé en  $^{14}\text{CO}_2$  :

La combustion complète du carbone humide se fait avec les réactifs de Van Slyke-Folch (VAN SLYKE, PLAZIN and WEISIGER 1951, ARNOFF 1956). Le  $^{14}\text{CO}_2$  formé à la pression atmosphérique passe au travers d'un condenseur réfrigérant, puis à travers un piège au chlorure d'étain pour enlever les halogènes et autres gaz oxydants, puis par une valve de contrôle au mercure. Il arrive alors dans une chambre d'ionisation; du  $\text{CO}_2$  pur est insufflé lentement à travers le système de combustion pour chasser le  $^{14}\text{CO}_2$ . La mesure de radio-activité est faite directement en utilisant un électromètre Dynacon (Modèle 6000. Nuclear Chicago). L'auteur estime que l'efficacité de ce système de comptage est de 100 % avec une précision de 1 % (d'après la comparaison avec les échantillons du "National Bureau of Standards").

Cette méthode est théoriquement la meilleure de toutes celles que nous analysons ici :

1. Les échantillons restent *in situ* pendant l'incubation. Ils sont très peu perturbés avant la mesure. Cependant l'inoculation *in situ* et la manipulation des chambres d'incubation (système de fermeture par exemple) ne peut se concevoir qu'à de faibles profondeurs. Le lac Borax avait 1,45 m de profondeur au maximum des pluies.

2. La méthode de mesure de la radio-activité est, à en croire l'auteur, d'une efficacité absolue, mais elle suppose un appareillage qui n'est pas à la portée de tous les laboratoires.

### 3 - METHODE DE HICKMAN ET ROUND

C'est pourquoi, sans doute, les auteurs anglais, aux environs des années 1967-1968 ont été amenés à chercher d'autres solutions permettant d'utiliser les compteurs à tube de Geiger-Müller. Deux "écoles" entreprirent presque simultanément les expériences, l'une à Bristol (HICKMAN et ROUND), l'autre à Aberdeen (STEELE et BAIRD; LEACH).

HICKMAN et ROUND estiment que l'on peut évaluer par des méthodes totalement différentes la production due aux *microphytes épipéliques* (des vases) d'une part, et aux *microphytes épipsammiques* (des sables) d'autre part. Ils attribuent la production primaire aux diatomées principalement. Ils font en sorte d'aboutir à une mesure au compteur de filtres analogues à ceux qu'on obtient quand on étudie des échantillons de phytoplancton. Il faut donc traiter les échantillons de sédiment de façon à mettre en suspension dans de l'eau les diatomées benthiques marquées.

#### 3.1 - L'étude des sables est effectuée dans la zone littorale d'un petit lac, Shear Water, Wiltshire (HICKMAN 1969).

A. Le sédiment est prélevé par carottage sur cinq millimètres d'épaisseur, lavé sur filtre en fibre de verre pour que ne reste que la fraction sableuse et ses diatomées attachées aux grains.

B. Une fraction de deux millilitres de sable lavé est introduite dans les bouteilles de cent millilitres avec de l'eau du lac filtrée.

C. On introduit la solution de  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ . L'incubation se fait durant trois heures, *in vitro*, dans des conditions de température et de lumière très précises. ( $18 \pm 2^\circ\text{C}$ ; 3456 lumens).

D. L'échantillon est passé dans un appareil à ultra-sons et les algues sont ainsi détachées des grains. On remet le tout en suspension. Le sable tombe au fond et l'eau surnageante est traitée comme une eau avec phytoplancton, c'est-à-dire filtrée sur filtre "Millipore" HA. Les filtres sont séchés et passés aux vapeurs de HCl.

E. L'activité des filtres est déterminée avec un compteur à courant de gaz et fenêtre mince.

#### 3.2 - Dans le cas des vases

A. On utilise la capacité des diatomées à migrer au travers d'un "lens tissue" (papier à fibres lâches servant généralement à essuyer l'optique). Cette capacité de migration a été étudiée par EATON et MOSS (1966), ROUND et EATON (1966), ROUND et PALMER (1966), MOSS et ROUND (1967). Ce tissu est supposé retenir 87,5 % des diatomées dans la période du jour qui correspond au moment naturel de la migration.

B. Le papier est prélevé avec la population et placé dans une bouteille avec de l'eau filtrée et du  $^{14}\text{C}$ .

C. Après trois heures d'incubation, on agite le flacon pour détacher les algues du tissu (selon le même auteur : 85,8 % sont enlevées).

D. L'eau contenant alors les diatomées est filtrée.

E. La radio-activité mesurée sur les filtres est attribuée à 73,3 % (85,8 % de 87,5 %) de la population totale. Ainsi, on ramène la production à une surface de sédiment.

L'idée la plus intéressante de ces travaux me paraît être l'utilisation d'un appareil à ultra-sons pour détacher les cellules des grains de sable après l'incubation. Mais, par ailleurs, l'isolation quasi complète des cellules de leur milieu et de leur substrat naturel pendant l'incubation paraît critiquable; tous les microphytes participant à la production primaire ne sont pas représentés, de plus, il devient assez délicat d'évaluer la production de certaines vases plus ou moins sableuses ou de certains sables plus ou moins vasards; enfin, ces expériences ayant, elles aussi, été prévues sur des fonds accessibles à pied, elles sont assez difficiles à adapter à n'importe quelle profondeur.

#### 4 - METHODE DE STEELE ET BAIRD

Avec STEELE et BAIRD, nous abordons pour la première fois des travaux effectués à des profondeurs plus importantes, accessibles seulement par des engins aveugles ou par la plongée en scaphandre autonome. Les travaux de STEELE et BAIRD portent sur un sable quartzeux, propre, fin, bien calibré, souvent agité par les vagues. Les stations se situent à Loch Ewe, (côte Ouest de l'Ecosse), entre la plage et un fond de 15 m (STEELE et BAIRD 1968).

A. Le sable des stations accessibles en bateau est collecté par benne. L'eau de mer au voisinage du fond est prélevée avec une bouteille lestée, et filtrée pour en éliminer le phytoplancton. Elle sert à reconstituer dans les flacons cylindriques, avec 15 g de sable égoutté une petite portion du fond marin d'environ 23 cm<sup>2</sup>.

B. Le <sup>14</sup>C est injecté dans les flacons cylindriques qui sont ensuite retournés sur leurs couvercles. Le sable étant bien réparti dans le couvercle, les flacons sont fixés sur un plateau et immergés *in situ*.

C. Après incubation, en général une demie journée, tout l'échantillon est filtré sur filtre de fibres de verre (Whatman GF/C). On prélève deux coupelles de sable qui sont séchées en présence de silicagel, puis aplanies pour que la surface de sable soit bien régulière.

D. Ces coupelles sont enfin passées au compteur de type Geiger-Müller. Le résultat des comptages est corrigé par un facteur dont le principe de calcul mérite un développement spécial.

E. *Facteur de correction* : BAIRD part du principe que l'activité totale à l'épaisseur zéro des diatomées benthiques marquées au <sup>14</sup>C dans un sable donné peut être calculée en multipliant le résultat du comptage d'une coupelle soigneusement remplie d'un sable marqué séché, par un facteur F, propre à chaque sédiment, et à condition d'effectuer toutes les mesures avec la même installation.

$$F = \frac{\text{activité à l'épaisseur zéro par gramme de sable sec}}{\text{activité observée}}$$

Pour déterminer le numérateur de cette fraction, il pratique une manipulation de laboratoire qui met en jeu une culture de diatomées marquées. WETZEL, avec ses installations, confirme la validité des premiers résultats (BAIRD et WETZEL 1968).

Une certaine quantité d'une culture de diatomées, marquées au  $^{14}\text{C}$ , est intimement mêlée à une quantité connue de sable séché de façon à reconstituer un sable humide contenant des microphytes. Ce sable est à nouveau séché et traité comme un échantillon ordinaire. Il donnera la valeur : "activité observée".

On effectue par ailleurs des comptages directs sur des filtrats de quantités connues très faibles puis croissantes de la culture marquée. Ces faibles quantités donnent des mesures pratiquement sans auto-absorption. Ainsi on calcule la radio-activité introduite artificiellement dans le sable et l'on rapporte au poids sec de tout l'échantillon ce qui donne l'activité sans auto-absorption par gramme de sable sec appelée : "activité à l'épaisseur zéro par gramme de sable sec". F représente donc la proportion de pertes par l'absorption due aux grains.

Les mesures effectuées en phase gazeuse par WETZEL sur des échantillons témoins entièrement traités par combustion de Van Slyke, ont prouvé que la méthode des cultures marquées donnait sensiblement pour F les mêmes résultats.

Le facteur croît en raison inverse de la dimension des grains : il est voisin de 20 pour une station où les particules ont en moyenne  $600\mu$  ; il passe à 26, 30 et 32 pour des stations où les particules ont 300 à  $100\mu$ . Grâce à cette correction, le principe de la méthode de GRØNTVED est conservé, mais la méthode elle-même est simplifiée et améliorée. De plus, le sédiment peuplé de ses microphytes est traité comme un tout et non plus en fractions.

LEACH, en collaboration avec BAIRD, a effectué des travaux sur des vases d'estuaires situées près d'Aberdeen dans la zone de balancement des marées (LEACH 1970). Il a évalué, comme pour les sables, un facteur de correction qui est de 50 à 54 suivant les stations considérées, toutes vaseuses. Ce travail sur des vases intertidales, donc accessibles à pied, a été réalisé non pas avec des flacons, mais avec des chambres d'incubation en plexiglas à la façon de WETZEL (1).

(1) - Les données recueillies, à Aberdeen et Loch Ewe au cours d'un séjour d'étude effectué sous la direction de M. BAIRD, à la "Culterty Field Station" chez le Dr LEACH, au Laboratoire de Botanique de l'Université de Bristol chez le Dr HICKMAN, ont été exposées dans un document multigraphié du Centre ORSTOM de Nosy-Bé (Madagascar) (PLANTE-CUNY 1970).

## 1 - CHOIX D'UNE METHODE

Après un examen comparatif des méthodes décrites plus haut, il apparaît que celle de WETZEL est la plus sûre pour des incubations sans perturbation du milieu et que, si l'on en croit l'auteur, elle donne le meilleur rendement pour les mesures de  $^{14}\text{C}$  assimilé.

Mais il faut tenir compte, dans ce choix, des impératifs suivants : dispositif de comptage disponible, caractères océanographiques des fonds à étudier (situation par rapport à la côte, profondeur, nature sédimentaire, hydrodynamisme), et par conséquent, possibilités de manipulations, en plongée, à bord d'un bateau.

Tout d'abord, rares sont les laboratoires isolés équipés pour la radio-analyse en phase gazeuse, alors que les compteurs de type Geiger-Müller restent encore très répandus. C'est le cas à Nosy-Bé. Ensuite, le programme d'étude prévoyait des travaux sur :

- a - des biotopes sableux supposés très productifs, situés à proximité des récifs de coraux,
- b - des biotopes vaseux dans les baies où se développe la pêche des crevettes penaeides. La bande côtière, responsable de la production primaire benthique, comporte des stations assez profondes où seules les microphytes sont à l'origine de la production primaire (1). La manipulation de seringues et d'incubateurs en plexiglas a été testée : il faut enfoncer les incubateurs assez profondément dans le sédiment, introduire le  $^{14}\text{C}$  et, après incubation, fermer les incubateurs et les remonter :
  - ceci a été facilement réalisé dans les premiers mètres, mais les exigences physiologiques de la plongée à l'air comprimé interdisaient les longues manipulations, deux fois par jour, à chaque station plus profonde (six cylindres par station);
  - dans les sables très agités, les cylindres étaient souvent renversés;
  - dans ces mêmes sables, le  $^{14}\text{C}$  diffusait assez profondément au sein du sédiment (essais avec des liquides colorés) et n'était donc pas utilisé par l'échantillon.

Aussi, a-t-il paru plus logique, pour faciliter les comparaisons, d'utiliser le même appareillage pour tous les types de sédiments et à toutes les profondeurs. Enfin, les phases préparatoires et terminales du travail devaient être assez simples pour être réalisées *in situ*. C'est pourquoi, la méthode de STEELE et BAIRD a été retenue avec quelques modifications (collecte, mode d'essorage, durée de l'incubation) que l'on trouvera exposées dans le paragraphe suivant.

---

(1) Nous nous sommes limités à la profondeur de 60 m, profondeur accessible pour nous au travail en scaphandre.



La méthode de STEELE et BAIRD présentait l'avantage supplémentaire d'être également utilisée au "National Institute of Oceanography" de Ernakulam et elle devait être appliquée à des biotopes sableux du Golfe de Marseille (Station Marine d'Endoume - travaux en cours). Un début de standardisation des méthodes dans ce domaine pouvait donc être espéré.

## 2 - REALISATION SUR LE TERRAIN

La production de carbone due à un échantillon végétal marin est évaluée grâce aux facteurs suivants :

- teneur en CO<sub>2</sub> de l'eau qui baigne l'échantillon : c
- activité totale à l'épaisseur zéro de l'échantillon après incubation: b
- activité introduite : a

la formule de calcul étant : CO<sub>2</sub> assimilé =  $\frac{b \cdot c}{a}$

Les deux premiers facteurs ont été évalués grâce aux manipulations que nous résumons ici :

A - Pour chaque station, on prélève en plongée :

1. avec une petite pelle et très doucement des morceaux de la pellicule superficielle de sédiment (épaisseur 0,5 cm environ) (1). Ce sédiment est enfermé sous l'eau dans une boîte étanche.
2. avec une grande bouteille d'hydrologie en plastique, environ six litres d'eau au proche voisinage du fond.

B - Le sable est essoré sur plusieurs papiers absorbants (le premier étant un filtre à indice de rétention assez fort mais à vitesse de filtration rapide : Whatman n° 6).

L'eau de mer, qui servira comme milieu d'incubation, est filtrée sur filtre "Millipore HA", porosité 0,45 µ, pour éliminer le phytoplancton.

C - On place dans chaque flacon un poids de sédiment humide estimé à l'avance de telle sorte qu'il couvre la surface du flacon sur environ 0,5cm d'épaisseur. A partir d'une fraction de ce sable humide, on évaluera le poids sec correspondant.

On remplit les flacons (250 ml) d'eau de mer filtrée correspondant au prélèvement. On introduit le contenu d'une ampoule renfermant 4µ Ci sous forme de NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> provenant de l' "International Agency for <sup>14</sup>C determination" de Charlottelund (Danemark).

D - Les flacons cylindriques sont fermés (couvercle à vis) retournés de sorte que le sédiment se dépose dans le couvercle, puis fixés sur un plateau lesté (4 flacons clairs, 2 flacons noirs). Le plateau peut être mis en place à la main en plongée ou descendu depuis l'embarcation jusqu'au fond à l'aide

---

(1) On prélève en même temps du sédiment par pelletage pour étudier les teneurs en pigments (congélation immédiate), et par carottage pour étudier les populations de diatomées.

d'un fil de nylon. Le fil est attaché à une bouée elle-même immobilisée par un corps mort. Les temps de manipulation sont prévus pour que les plateaux soient en place au lever du jour.

E - On les remonte à la surface au bout d'une demi-journée d'incubation (lever du jour - midi vrai). Les flacons sont agités retournés, placés immédiatement à l'obscurité. On filtre le contenu sur filtres Whatman GF/C (fibre de verre; indice de rétention > 100). Les filtrats sont exposés à des vapeurs de HCl pour éliminer le carbone radio-actif non assimilé qui pourrait subsister.

F - On remplit deux coupelles d'aluminium par flacon. Ces coupelles de 3 cm de diamètre et de 1,5 mm d'épaisseur correspondent au diamètre de la fenêtre du compteur et sont livrées avec lui. Après dessiccation en présence de silicagel, les surfaces sont arasées et les coupelles sont passées au compteur. En général, on effectue deux ou trois mesures successives de 2 500 impulsions pour la même coupelle.

*Compteur utilisé* : château de plomb provenant d'un compteur Nuclear Chicago. Ce détecteur à courant de gaz fonctionne avec :

- anode de tungstène : Ø 0,001 inch, isolateur teflon, fenêtre "micromil",
- circulation de gaz : "Q" gaz, 98,7 % hélium, 1,3 % butane. L'électronique est une unité de comptage type CEA comprenant : - une alimentation stabilisée A L S 400, une alimentation T H T type 4, un tiroir universel type T U-2, deux tiroirs double décade type T 2 D-1, un tiroir à temps et coups pré-réglés type TTCP-1.

### 3 - EXEMPLE DE CALCUL DE LA PRODUCTION DE CARBONE

#### 3.1 - Principes d'évaluation des trois facteurs principaux

##### A - Teneur de l'eau en CO<sub>2</sub> puis en carbone inorganique

A partir de la salinité, on calcule la chlorinité, puis l'alcalinité, et, connaissant la température et le pH, on parvient à la teneur en CO<sub>2</sub> en millimoles par litre (tables de BUCH *in* STRICKLAND et PARSONS 1968).

$$\text{CO}_2 \text{ en millimoles/litre} \times \frac{12}{14} = \text{teneur en carbone inorganique}$$

##### B - Activité introduite

J'ai admis que les variations de radio-activité entre chaque ampoule de 4 $\mu$  Ci étaient négligeables en regard des variations des autres facteurs nécessaires au calcul.

Ainsi, 4 $\mu$  Ci correspondant à  $2,22 \times 4 \cdot 10^6$  dés./mn et en tenant compte de l'efficacité du comptage (47 %, évaluée d'après une source étalon dont on connaît l'activité absolue), on obtient une activité introduite de  $8,88 \cdot 10^6 \times 47 \cdot 10^{-2}$  dés./mn.

##### C - Activité totale à l'épaisseur zéro de l'échantillon après incubation

Cette activité est évaluée par la méthode de BAIRD, c'est-à-dire qu'elle représente le produit des trois facteurs suivants : - activité observée par mesure au compteur (i/mn) - facteur de correction (propre à chaque sédiment) - poids sec de l'échantillon (g).

### Evaluation du facteur F de correction :

Ce facteur a été évalué pour chacun des 12 types de sédiment à l'étude à Nosy-Bé. Il varie de 16 à 48 en suivant directement la variation granulométrique (16, sable assez grossier, 48 vase fine, études granulométriques en cours).

On a injecté 80 $\mu$  Ci de NaH <sup>14</sup>CO<sub>3</sub> à deux portions de 100 ml environ d'une culture de diatomées. L'incubation a duré 15 heures pour permettre une bonne assimilation. Les rinçages éliminant le <sup>14</sup>C non fixé sont faits par centrifugations successives.

a - Des portions de deux fois 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml ont été filtrées. Les filtres séchés ont été mesurés au compteur. La courbe des valeurs a permis de déterminer *la radio-activité pour 5 ml sans auto-absorption* (activité à l'épaisseur zéro).

b - Des volumes de 5 ml de la même culture radio-active bien homogénéisée sont introduits dans chaque bécher contenant un poids donné de sédiment type, sec et stérile. (Ce poids correspond à une valeur moyenne des poids secs observés, pour une année, dans la station étudiée, à partir du sédiment essoré).

On reconstitue par malaxage prolongé avec addition éventuelle d'eau stérile, un sédiment peuplé de microphytes marqués, la radio-activité ainsi introduite étant connue.

Après séchage, on remplit deux coupelles par échantillon reconstitué.

c' -

$$F = \frac{\text{activité à l'épaisseur zéro introduite (i/mn) par g de séd. sec}}{\text{activité observée (i/mn)}}$$

Cette activité à l'épaisseur zéro introduite est calculée comme suit :

- *activité sans auto-absorption* de 0,5 ml de culture marquée, moyenne des différentes mesures pour :

0,1 ml : 14 825 i/mn	0,3 ml : 42 498 i/mn
0,2 ml : 28 462 i/mn	0,4 ml : 57 683 i/mn

à partir de 0,5 ml, assez fortes variations d'un filtre à l'autre. La courbe donne 71 500 i/mn pour 0,5 ml.

- *temps mort* : pour les mesures d'un nombre important d'impulsions l'erreur due au temps mort du comptage doit entrer en ligne de compte. Dans l'appareil utilisé, le temps mort n'a pas été imposé. Il a été calculé à l'aide de deux sources d'activité voisine, supérieure à  $4 \cdot 10^3$  i/mn (ici  $43 \cdot 10^3$  et  $45 \cdot 10^3$ ) comptées séparément puis côte à côte.

$$\text{La formule } t \text{ (mn)} = \frac{2 (n_1 + n_2 - n_{12})}{(n_1 + n_2) \cdot n_{12}} \quad (n \text{ étant un taux de comptage})$$

est extraite de "The Measurement of Radio-Isotopes" D. TAYLOR in Methuen's Monogr. Phys. Subj. (BAIRD, communication personnelle).

Le temps mort trouvé par cette méthode est de  $523 \cdot 10^{-9}$  mn.

- corrections :

temps efficace de comptage : une minute diminuée du temps perdu

temps perdu pour le comptage :  $523 \cdot 10^{-9} \cdot \text{nombre d'impulsions}$   
pour 71 500 i/mn (0,5 ml de culture),

temps efficace = 1 mn -  $(523 \cdot 10^{-9} \cdot 71\ 500) = 0,963$  mn

pendant une minute, on aurait dû enregistrer : 74 247 i/mn, soit pour 5 ml de culture : 742 470 i/mn, c'est l'activité à l'épaisseur zéro introduite dans les différents poids de sable sec utilisés pour l'évaluation de F.

EXEMPLE DE CALCULS DE F POUR QUATRE STATIONS DE SABLE

Stations	Moyenne teneur en eau sable essoré	Sable sec en g	A E O I (1) /g sable sec	Moyenne des activités observées i/mn	Activité nette (correction B G) (2) i/mn.	F
TK <sub>1</sub>	20 %	20	37 123	2 228	2 212	17
TK <sub>2</sub>	26 %	18,5	40 811	1 899	1 883	21
TK <sub>3</sub>	27,4 %	18,2	<del>50</del> <sup>40</sup> 795	1 764	1 748	23
TK <sub>4</sub>	32 %	15	49 498	1 531	1 515	33

3.2 - Résultats d'une série de mesures (sortie du 20 Février 1970)

A - La formule qui donnera finalement la quantité de carbone produite par les microphytes par unité de surface est clairement donnée par LEACH (1970)

$$\text{mg C/m}^2 = \frac{I \cdot C_o \cdot F \cdot W \cdot V}{C_a \cdot A}$$

I : teneur en carbone inorganique de l'eau de mer au voisinage du fond pour la station considérée : mg/l

V : volume d'eau au contact de l'échantillon = volume du flacon ici 0,251

C<sub>o</sub> : activité observée sur un échantillon

F : facteur de correction propre à la station

W : poids sec de l'échantillon

C<sub>a</sub> : activité introduite

A : surface d'incubation (surface de base du flacon).

(1) A E O I : activité à l'épaisseur zéro introduite

(2) back ground pour cette série : 16 i/mn

B - Le calcul est effectué ici sur les quatre stations de sable : TK<sub>1</sub> (profondeur : 6 m), TK<sub>2</sub> (16 m), TK<sub>3</sub> (23 m), TK<sub>4</sub> (38 m), flot de Tany-Kely.

L'incubation eut lieu durant la matinée du 20 Février 1970.

I: La salinité ne variait que de 34,45 ‰ (à 6m) à 34,65 ‰ (à 38m) et les températures de 28,31°C à 25,74°C. Les teneurs en CO<sub>2</sub> sont de ce fait toutes quatre voisines de 91 mg/l, soit en carbone inorganique : 24,8 mg C/l

I.V = 6,2 mg C/l (flacon de 0,25 l)

C<sub>a</sub> : comme nous l'avons vu plus haut (3.1 - B) :  $8,88 \cdot 10^6 \times 47 \cdot 10^{-2}$  i/mn

A :  $28 \cdot 10^{-4}$  en m<sup>2</sup>

C<sub>a</sub> . A = 11 686

C<sub>o</sub> : l'activité observée est le résultat de plusieurs mesures.

Pour chaque station, un flacon noir et cinq clairs ont été filtrés. (Dans des sorties ultérieures, il fut jugé préférable de préparer deux "noirs" et quatre "clairs").

Deux coupelles par flacon étaient préparées. Chacune était comptée au minimum trois fois jusqu'à 2 500 impulsions.

La moyenne des taux de comptage pour chaque flacon était calculée. On a soustrait de chacun des "clairs", la valeur du "noir" pour tenter d'éliminer l'assimilation non photosynthétique du carbone. La moyenne était faite entre ces cinq activités, ce qui donnait l'activité observée C<sub>o</sub>.

Stations du 20-2-70	F	W (poids sec en g)	C <sub>o</sub> i/mn	Production de carbone mg/m <sup>2</sup> /demi-jour <i>in situ</i>
TK <sub>1</sub> - 6m	17	20	419	75,6
TK <sub>2</sub> - 16 m	21	18	351	70,2
TK <sub>3</sub> - 23 m	23	18	64	14,0
TK <sub>4</sub> - 38 m	33	15	16	4,2

Pour F, voir 3.1 C - et tableau précédent.

*Note* : L'expression de la production de carbone en  $\text{mg/m}^2/\text{demi-jour}$ , *in situ* est sujette à discussion. Le calcul, à partir de cette valeur, d'un taux de production horaire ou journalier exige, en toute rigueur, le dépouillement des résultats de diverses expériences ayant pour but d'établir les variations du taux de production au cours de la journée.

### 3 - CONCLUSIONS

Dans le souci, commun à la plupart des auteurs, de relier ces évaluations de production à des valeurs de biomasse végétale, j'ai effectué en parallèle des mesures de teneurs en pigments photosynthétiques - notamment en chlorophylle a - et des comptages de microphytes (diatomées principalement). Grâce aux données obtenues par application de ces méthodes dans divers types de sédiments, en diverses périodes de l'année, on tente d'apprécier la richesse potentielle en nourriture pour les invertébrés et certains poissons dans telle ou telle région benthique.

Si l'on parvient à une certaine standardisation, on pourra comparer entre elles les diverses aires littorales mondiales.

Malgré tous les problèmes soulevés par son emploi, sa mesure, et les erreurs risquées, le  $^{14}\text{C}$  a rendu et rendra encore de grands services dans les études de production primaire. Il a l'inconvénient de l'auto-absorption des faibles radiations bêta. Mais, le carbone étant un élément capital du métabolisme végétal, l'utilisation du  $^{14}\text{C}$  présente l'avantage de ne pas perturber les mécanismes physiologiques naturels. Dans le cas particulier de l'étude de la production primaire dans les sédiments, la méthode du  $^{14}\text{C}$  est facile à appliquer jusqu'à des profondeurs importantes, par opposition par exemple, aux méthodes de l'oxygène. Appliquée *in situ* sur les sédiments, elle ne peut donner des évaluations surestimées de la production puisque les conditions naturelles d'éclairement sont respectées; de plus les valeurs qu'elle fournit sur les différents types de fonds (sables, vases) sont directement comparables entre elles.

#### *Remerciements* ::

Je tiens à remercier tout particulièrement Mr. BAIRD du Laboratoire marin d'Aberdeen sous la direction duquel j'ai pu effectuer à Aberdeen et Loch Ewe toutes les opérations et les mesures utiles pour une application ultérieure fidèle de sa méthode. Mr. BAIRD n'a pas ménagé ensuite ses conseils et son temps pour me donner, par écrit, tous les renseignements complémentaires.

Mr. MOUTONNET, du Laboratoire des Radio-Isotopes de Tananarive a bien voulu m'aider à résoudre certaines difficultés théoriques et technologiques. Grâce à lui, une importante partie du matériel de comptage m'a été prêtée. Je le remercie vivement pour son aide.

## BIBLIOGRAPHIE

- ARNOFF, S. - 1956 : Techniques of radiobiochemistry. *Iowa State Univ. Press.* Ames. 228 p.
- BAIRD, I.E. et WETZEL R.G. - 1968 : A method for the determination of zero thickness activity for  $^{14}\text{C}$  labeled benthic diatoms in sand. *Limnol. Oceanogr.* 13 (2) : 379-382.
- EATON, J.W. et MOSS, B. - 1966 : The estimation of numbers and pigment content in epipellic algal populations. *Limnol. Oceanogr.* 11 (4) : 584-595.
- GARGAS, E. - 1970 : Measurements of primary production, dark fixation and vertical distribution of the microbenthic algae in the Øresund. *Ophelia* 8 : 231-253.
- GRØNTVED J. - 1960 : On the productivity of the microbenthos and phytoplankton in some danish fjords. *Medd. Danm. Fiskeri. Havundersogelser* N.S. 3 (3) : 55-92.
- GRØNTVED J. - 1962 : Preliminary report on the productivity of microbenthos and phytoplankton in the Danish Wadden Sea. *Medd. Danm. Fiskeri Havundersogelser.* N.S. 3 (12) : 347-378.
- GRØNTVED J. - 1966 : Productivity of the Microbenthic Vegetation in the Danish Wadden Sea (Abstract). *Veröffentlich. Inst. Meeresforschung Bremerhaven* Sond. 11 : 275-276.
- HICKMAN, M. - 1969 : Methods for Determining the primary productivity of epipellic and epipsammic algal associations. *Limnol. Oceanogr.* 14 (6) 936-941.
- LEACH, I.H. - 1970 : Epibenthic algal production in an intertidal mudflat. *Limnol. Oceanogr.* 15 (4) : 514-521.
- MARSHALL, N., SKAUEN D.M., LAMPE H.C., OVIATT C.A. (non daté) : Measurement of primary productivity of intact samples of the benthic microflora. *Appendix* in : Sensitivity of Benthic Microflora to Pollution Gradients. *Final Project Report on Grant IWP-01220* (rapport multigraphié).
- MOSS, B. et ROUND, F.E. - 1967 : Observations on standing crops of epipellic and epipsammic algal communities in Shear Water Wilts. *Brit. Phycol. Bull.* 3 : 241-248.
- PLANTE-CUNY M-R - 1970 : Données méthodologiques pour aborder l'étude de la production primaire dans les sédiments marins. *O.R.S.T.O.M. Nosy-Be* Doc. n° 10 multigr. : 1-36.

- ROUND F.E. et EATON : Persistent vertical migration rhythms in benthic  
J.W. - 1966 microflora. III - The rhythm of the epipelagic algae  
in a freshwater pond. *J. Ecol.* 54 : 609-616.
- ROUND F.E. et PALMER : Persistent vertical migration rhythms in benthic  
J.D. - 1966 microflora. II - Field and laboratory studies on  
diatoms from banks of the River Avon. *J. Marine  
Biol. Assoc. U.K.* 46 : 149-171.
- SOURNIA A. - 1971 : voir ici même, article précédent.
- STEELE J.H. et BAIRD : Production ecology of a sandy beach. *Limnol. Ocea-*  
I.E. - 1968 *nogr.* 13 (1) : 14-25.
- STRICKLAND J.D.H. et : A Practical Handbook of Seawater Analysis. *Fish.*  
PARSONS T.R. - 1968 *Res. Board Canada.* 167 : 1-311.
- VAN SLYKE D.D., : Reagents for the Van-Slyke - Folch wet carbon com-  
PLANZIN J. et WEISIGER bustion. *J. Biol. Chem.* 191 : 299-304.  
J.R. - 1951
- WETZEL, R.G. - 1963 : Primary Productivity of Periphyton. *Nature* 197 :  
1 026-1 027.
- WETZEL, R.G. - 1964 : A comparative study of the primary productivity of  
higher aquatic plants, periphyton and phytoplankton  
in a large, shallow lake. *Int. Revue ges. Hydrobiol.*  
49 (1) : 1-61.
- WETZEL, R.G. - 1965 : Techniques and problems of primary productivity  
measurements in higher aquatic plants and periphy-  
ton. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* 18 (Suppl.) : 249-267.



utilisation du  $^{14}\text{C}$  pour l'évaluation  
de la production primaire  
dans les sédiments marins

M.R. PLANTE-CUNY

On expose les quatre méthodes qui sont actuellement pratiquées pour la mesure de la production primaire dans les sédiments, et qui utilisent le  $^{14}\text{C}$  comme indicateur nucléaire.

On décrit les modalités d'application de la méthode choisie pour l'étude des sédiments marins de la région de Nosy-Bé (Madagascar).

On donne un exemple de calcul de la production de carbone dans quelques stations.

The four methods involving use of  $^{14}\text{C}$  as nuclear tracer and used at the present time for measurement of primary production in sediments are described.

One of these methods has been used with some modification for the study of marine sediments in the neighbourhood of Nosy-Bé (Madagascar).

An example of calculation of carbon production in some stations is given.