

T D M
TRAVAUX ET DOCUMENTS
MICROFICHES

N° 86

F3

**IMPORTANCE DES BACTÉRIES
HÉTÉROTROPHES AÉROBIES
DANS UNE LAGUNE TROPICALE
(LAGUNE ÉBRIÉ, CÔTE D'IVOIRE).
BIOMASSE, PRODUCTION,
EXPORTATIONS.**

Jean-Pascal TORRETON

CRISTOM
Editions

Année 1991

THESE

présentée par

Jean-Pascal TORRETON

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE II

FACULTE DES SCIENCES DE LUMINY

Spécialité : Biologie cellulaire et microbiologie

**Importance des bactéries hétérotrophes aérobies dans une
lagune eutrophe tropicale (Lagune Ebrié, Côte d'Ivoire).
Biomasse, production, exportations**

Soutenue le 25 septembre 1991

Devant le jury composé de :

MM. A. BIANCHI

D. BONIN

P. CAUMETTE

Ph. DUFOUR

MME. F. JOSET

M. P. SERVAIS

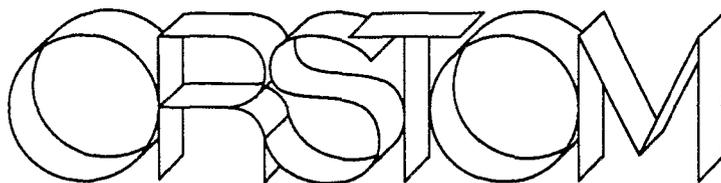
ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 35.385 ex 2

Cote : A

11 MAI 1992

TDM 86



Editions de l'ORSTOM

**INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION**

Collection :

Travaux et Documents Microédités

PARIS 1992

ISBN : 2-7099-1097-7

© ORSTOM

F 3

«La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2
« et 3 de l'article 41, d'une part, que les «copies ou reproductions
« strictement réservées à l'usage privé du copiste et non des-
« tinées à une utilisation collective» et, d'autre part, que les
« analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et
« d'illustration, «toute représentation ou reproduction intégrale,
« ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses
« ayants droit ou ayants cause, est illicite» (alinéa 1er de l'article 40).

« Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé
« que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par
« les articles 425 et suivants du Code pénal.»

AVANT-PROPOS

Le travail présenté ici a été réalisé au Centre de Recherches Océanographiques d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Je tiens en premier lieu à remercier toutes les personnes qui ont contribué à développer l'écologie microbienne à l'ORSTOM. Cette discipline est récente, du moins dans son approche actuelle, et ses acquis sont continuellement remis en question, essentiellement pour des raisons d'ordre méthodologique. La confiance accordée par l'ORSTOM à l'équipe "environnement" du CRO a grandement facilité l'approche qui s'y est ainsi développée dans une sérénité appréciable.

Au CRO, je dois beaucoup à Daniel Guiral pour sa profonde connaissance de l'écologie en général, et du milieu lagunaire ivoirien en particulier, pour ses compétences dans des domaines très variés et enfin pour sa grande réceptivité aux opinions diverses. Une part importante de ce travail n'aurait pu être effectuée sans l'arrivée providentielle de Marc Bouvy fin 1988. La plus grande part des résultats exposés ici sont le produit de notre travail commun. L'étude des cycles nycthémeraux et les améliorations du protocole de mesure de la production bactérienne n'auraient pu être réalisées dans le même temps sans son concours. Le travail réalisé depuis son arrivée souligne l'importance de travailler en binôme en écologie microbienne.

L'essentiel de ce travail a été réalisé en équipe. Au cours de l'étude des variations nycthémeraales et des profils verticaux en 1989, Robert Arfi a pris en charge les mesures de production primaire au ^{14}C et les dosages des pigments photosynthétiques. Souleymane Bambara a réalisé l'essentiel des dosages d'oxygène dissous nécessaires aux mesures de respiration et de production à l'oxygène. Pascal Macouby s'est chargé des dénombrements du zooplancton. Les mesures spécifiquement bactériennes étaient réalisées par Marc Bouvy et moi-même. L'étude de la déstratification en baie de Biétri en 1987 a été réalisée à l'initiative de D. Guiral qui s'est plus particulièrement occupé des sels nutritifs et des mesures physiques et chimiques. La courantologie et les pigments photosynthétiques étaient pris en charge par R. Arfi. La production primaire à l'oxygène et la respiration étaient effectués par S. Bambara.

Le travail de terrain doit beaucoup à F. Faure pour la fabrication du mésocosme et de diverses réalisations nécessaires à cette étude. L'emploi de l'Akoué, le bateau laboratoire du CRO, n'a été possible que grâce à l'acharnement thérapeutique de F. Sanséo et de son équipe sur sa version ancienne, puis grâce à l'opiniâtreté de J.-B. Amon-Kothias pour obtenir les financements nécessaires à sa nouvelle motorisation. A bord, j'ai énormément apprécié la compétence et le dévouement de Ouattara Sin et de Abou Tracré. Merci aussi aux piroguiers anonymes qui nous ont permis de continuer les prélèvements lorsque l'Akoué n'était pas disponible.

Tout au long de mon séjour au CRO l'aide technique de Roland Djédjé et de Rigobert Banhoro m'a été précieuse. Je tiens également à remercier Norbert Silvera et Jean-Louis Burgaud pour m'avoir permis l'accès au compteur à scintillation du centre Adiopodoumé et avoir entretenu le vénérable appareil jusqu'à sa panne définitive. Par la suite, seule la gentillesse de Régis Lacrotte m'a permis de continuer les mesures grâce au compteur de l'IRCA. Merci également au CEA pour avoir fourni gracieusement la totalité des radio-isotopes utilisés au cours de cette étude.

L'isolement scientifique et la faiblesse des moyens analytiques disponibles en Côte d'Ivoire ont été grandement atténués par des séjours réguliers au laboratoire de Microbiologie marine (CNRS, UPR 223) où l'on m'a toujours réservé le meilleur accueil. Chaque passage était l'occasion d'y mettre à jour mes recherches bibliographiques et de bénéficier de l'expérience de tous les membres de l'équipe. Je tiens à les remercier encore une fois pour m'avoir permis d'effectuer cette année de rédaction au sein de leur laboratoire dans les meilleures conditions.

Toute ma gratitude va à MM. Armand Bianchi, Daniel Bonin, Pierre Caumette, Philippe Dufour, MME. Françoise Joset et M. Pierre Servais qui ont accepté de juger ce travail et de prendre place dans mon jury.

Merci enfin à Julie sans laquelle ce travail n'aurait pas été possible.

A mes parents,

A Julie, Pia et Léo.

TABLE DES MATIERES

Chapitre 1 : INTRODUCTION

I. BACTERIES HETEROTROPHES; GENERALITES - ROLE GLOBAL DANS UN ECOSYSTEME	6
II. LA LAGUNE EBRIE	8
1. Situation-morphologie	8
2. Variabilité	8
3. Etudes microbiologiques déjà réalisées en lagune Ebrié	11
III. APPROCHE DU TRAVAIL	12
1. Définition des paramètres à étudier	12
2. Limites dues aux caractéristiques du milieu lagunaire - Approche du travail	13

Chapitre 2 : METHODOLOGIE

A - DETERMINATION DE LA BIOMASSE BACTERIENNE	17
I. DENOMBREMENTS	17
1. Communauté totale	17
2. Bactéries fixées et libres	18
II. VOLUME CELLULAIRE MOYEN	19
1. Détermination	19
2. Etalonnage	19
III. CONVERSION DU BIOVOLUME EN BIOMASSE	23
1. Contexte	23
2. Approches utilisées	25
3. Conclusion	30
B - MESURE DE LA PRODUCTION DE BIOMASSE BACTERIENNE PAR L'INCORPORATION DE THYMIDINE	31
I. INTRODUCTION	33
1. Principe	34
2. Critères d'applicabilité de la méthode	35
3. conclusion	37
II. METHODOLOGIE EMPLOYEE	38
1. Incorporation dans les macromolécules	38
2. Nature des macromolécules marquées - extraction de l'ADN	41
a. Introduction	41
b. Matériel et méthodes	42
c. Résultats et discussion	44
d. Conclusions	56
III. CONVERSION DE L'INCORPORATION DE THYMIDINE EN PRODUCTION DE BIOMASSE BACTERIENNE	58
1. Introduction	58
a. Le calcul théorique	58
b. Détermination empirique dans un système de calibration	60
c. Validation par une méthode indépendante	60
2. Approche utilisées en lagune Ebrié	61
a. Détermination empirique	61
b. Validation du facteur de conversion par la consommation d'oxygène	74
IV. CONCLUSION	84

C - DETERMINATION DE LA PREDATION SUR LES BACTERIES	85
I. CONTEXTE	85
II. METHODES DEVELOPPEES	86
III. RESULTATS	89
1. Disparition de l'ADN bactérien marqué	89
2. Inhibiteur des eucaryotes	94
3. Inhibiteurs des procaryotes	95
D - ACTIVITE DU SYSTEME DE TRANSPORTS D'ELECTRONS	99
I. INTRODUCTION ET PRINCIPE	99
II. PROTOCOLE EMPLOYE	100
1. Prélèvement stockage	100
2. Préparation de l'extrait cellulaire	100
3. Réalisation du test	100
4. Calculs	101
5. Efficacité de rétention des bactéries	101
E - AUTRES PARAMETRES	102
I. CONCENTRATION EN PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS	102
II. PRODUCTION PRIMAIRE AU ¹⁴ C	102
III. CARBONE ET AZOTE PARTICULAIRES	102
IV. RESPIRATION ET PRODUCTION D'OXYGENE	103

Chapitre 3 : ETUDE DE LA VARIABILITE NYCTHEMERALE DES BIOMASSES ET ACTIVITES BACTERIENNES

I. INTRODUCTION	107
II. OBJECTIFS DE L'ETUDE	109
III. REALISATION PRATIQUE	110
1. Choix des sites et des époques	110
2. Description de l'enceinte - mise en place	112
3. Paramètres étudiés - méthodes	112
4. Echantillonnage	113
IV. RESULTATS, DISCUSSION	114
1. Variations spatiales et saisonnières	114
a. Biomasse photosynthétique et production primaire	116
b. Biomasse bactérienne et incorporation de thymidine	118
c. Respiration et évolution nycthémerale de l'oxygène dissous	132
d. Sédimentation	133
e. Prédation	140
2. Evolution nycthémerale des activités et des biomasses bactériennes	144
a. Allure générale. Signification des différences jour/nuite	144
b. Relation probable avec les sources nutritives	157
V. CONCLUSIONS	165
1. Validité de l'approche en mésocosme	165
2. Caractéristiques des différents sites et époques	166
3. Représentativité d'une mesure ponctuelle	166
4. Contrôle de la production bactérienne: bactéries libres et fixées	167
5. Sources de production bactérienne	167

Chapitre 4 : PROFILS VERTICAUX

I. OBJECTIFS		170
II. METHODES		170
III. RESULTATS DISCUSSION		171
1. Distribution verticale des biomasses et des activités		178
a. Phytoplancton		178
b. Bactéries		178
c. Nanoplancton hétérotrophe		179
2. Productions et biomasses intégrées par m ²		182
a. Comparaison des biomasses bactérienne et phytoplanctonique		182
b. Comparaison des productions bactérienne et phytoplanctonique		184
c. Consommations d'oxygène bactérienne et phytoplanctonique		186
3. Evolution des effectifs et des activités bactériennes dans les couches profondes		187
IV. CONCLUSION		191

Chapitre 5 : ETUDE DE LA DESTRATIFICATION EN BAIE DE BIETRI

I. INTRODUCTION		194
CIRCONSTANCES ET CONSEQUENCES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA DESTRATIFICATION		
1. La baie de Biétri, évolution annuelle, zonation horizontale et verticale		194
2. Déstratification annuelle		196
II. ETUDE DES CONSEQUENCES MICROBIOLOGIQUE DE LA DESTRATIFICATION		200
1. Matériel et méthodes		200
a. Echantillonnage		200
b. Paramètres physico-chimiques		200
c. Paramètres biologiques		200
2. Résultats discussion		201
a. Période stratifiée		203
b. Colonne déstratifiée		205
c. Comparaison des profils		207
d. Importance des bactéries dans le rétablissement de l'anoxie		210
e. Interprétation des mesures d'ETS		210
3. Conclusion		214

Chapitre 6 : CONCLUSION GENERALE

METHODOLOGIE		215
Mesure de la production de biomasse bactérienne		215
Prédation		217
FONCTIONNEMENT		217
Variabilité		217
Contrôle de la biomasse bactérienne		224
Importance des processus bactériens dans les flux de carbone		226
Importance probable en tant que producteurs de biomasse		229
REFERENCES CITEES		233

Chapitre 1 : INTRODUCTION

I. BACTERIES HETEROTROPHES : GENERALITES - ROLE GLOBAL DANS UN ECOSYSTEME

II. LA LAGUNE EBRIE

1. Situation-morphologie

2. Variabilité

a. Variabilité des paramètres physico-chimiques

Variabilité temporelle

- à courte échelle
- saisonnière et interannuelle

Variabilité spatiale

b. Variabilité des paramètres biologiques

3. Etudes microbiologiques déjà réalisées en lagune Ebrié

III. APPROCHE DU TRAVAIL

1. Définition des paramètres à étudier

2. Limites dues aux caractéristiques du milieu lagunaire

Approche du travail

- 1 - Etude des variations journalières en surface
- 2 - Etude de la variabilité verticale (profils verticaux)
- 3 - Etude d'une variabilité à échelle de temps moyenne
(Déstratification en baie de Biétri)
- 4 - Méthodologie

I. BACTERIES HETEROTROPHES : GENERALITES - ROLE GLOBAL DANS UN ECOSYSTEME

Depuis une dizaine d'année, grâce à l'apport de nouvelles techniques d'approche, les connaissances sur le rôle des bactéries hétérotrophes aérobies dans les écosystèmes aquatiques montrent une évolution rapide. Leur importance quantitative dans les flux de matière et d'énergie a ainsi été considérablement réévaluée. Si un certain consensus règne sur cette importance nouvellement acquise, l'incidence de leur activité sur la chaîne trophique n'apparaît encore pas très clairement. Les bactéries hétérotrophes, selon l'influence globale qu'on leur attribue dans l'écosystème, peuvent être considérées comme un "relais" (link) ou une "impasse trophique" (sink).

Le concept de la boucle microbienne (microbial loop, Azam *et al.* 1983) leur attribue un double rôle. D'une part, leur activité minéralisatrice remet à la disposition des producteurs primaires les éléments minéraux complexés dans la matière organique détritique. La minéralisation d'une partie du matériel détritique particulaire en voie de sédimentation favorise ainsi la productivité de la colonne d'eau. D'autre part, la biomasse bactérienne produite, exploitée efficacement par des prédateurs eucaryotes (comme les flagellés hétérotrophes, Fenchel, 1984), parvient progressivement jusqu'aux niveaux supérieurs de la chaîne trophique. Ce double rôle a pour effet d'accroître le rendement global de l'écosystème.

Cette vision est toutefois contestée par certains travaux. D'une part, les bactéries semblent pouvoir entrer en compétition avec le phytoplancton pour certains éléments nutritifs limitants, notamment le phosphore en milieu limnique (Currie & Kalff, 1984) et l'ammonium en milieu marin (Eppley *et al.* 1977). Les nutriments seraient alors libérés par les micro-hétérotrophes consommant les bactéries, qui seraient donc à considérer comme les vrais minéralisateurs (Andersson *et al.* 1985 ; Bratbak, 1987). D'autre part, le transfert significatif de la biomasse bactérienne produite vers les niveaux supérieurs de la chaîne trophique a pu être contesté par une approche directe en milieu contrôlé (Ducklow *et al.* 1986). L'évolution rapide des connaissances, encore très fragmentaires, sur le contrôle de la biomasse bactérienne par les parasites bactériophages (virus et bactéries) fournira peut être une explication de ce transfert peu efficient.

Il est peu probable néanmoins que les interactions entre le compartiment hétérotrophe bactérien et l'ensemble de la chaîne trophique obéissent à un schéma unique et universel et seule l'étude de milieux variés, associée à des expérimentations en milieux contrôlés, pourra permettre d'établir des modèles de fonctionnement correspondant à des situations trophiques et environnementales données.

L'objectif de cette étude est d'apprécier l'importance quantitative des bactéries hétérotrophes aérobies dans quelques biotopes d'un milieu lagunaire tropical, la lagune Ebré (Côte d'Ivoire).

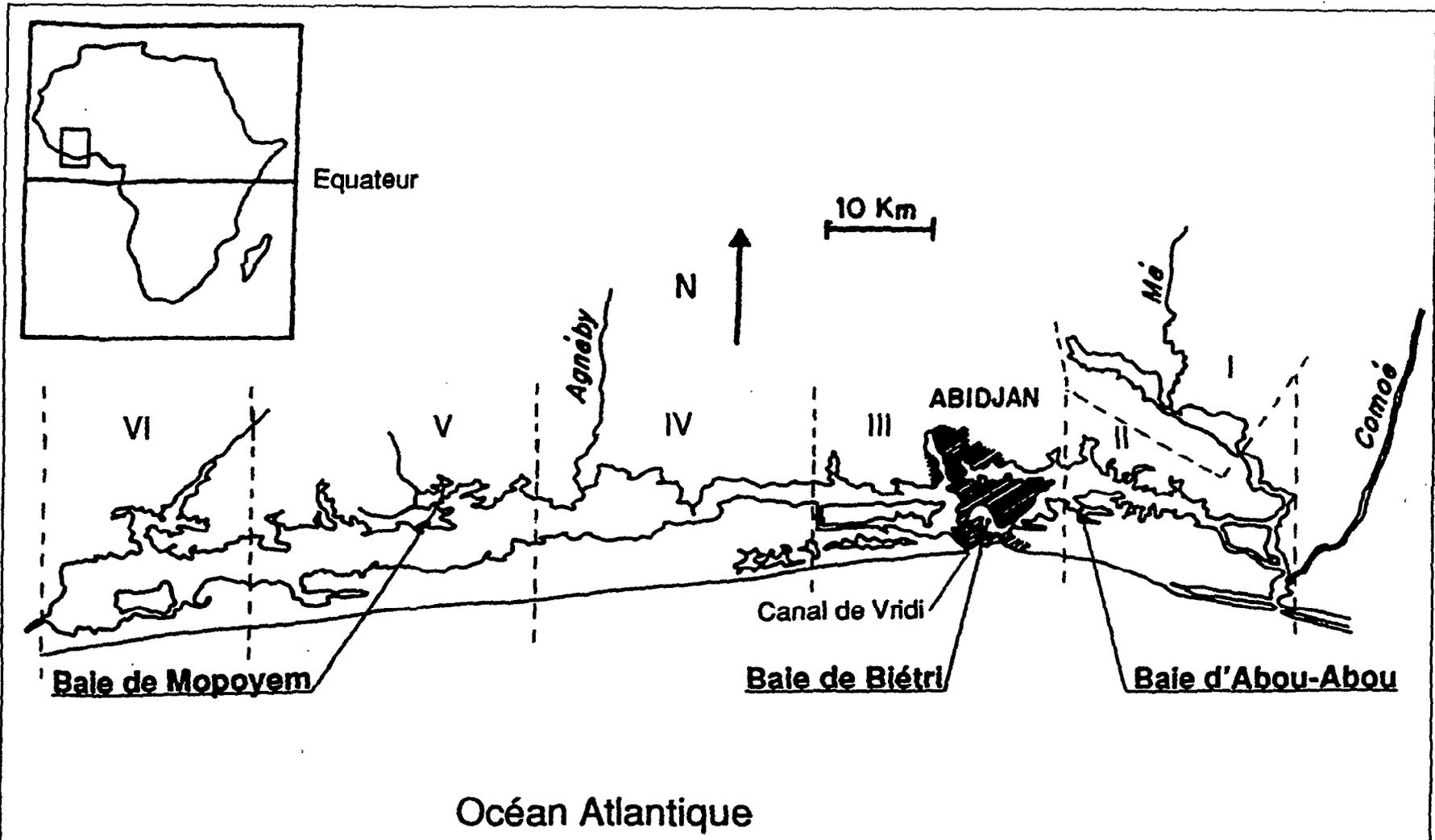


Figure 1.1 : Le système lagunaire Ebré et son découpage régional (régions I à VI).
Les 3 sites étudiés sont les baies d'Abou-Abou, de Biétri et de Mopoyem.

7

II. LA LAGUNE EBRIE

1. Situation-morphologie

Le système lagunaire Ebrié est le milieu saumâtre le plus étendu d'Afrique de l'Ouest. Il s'étire sur 125 km le long du littoral ivoirien à environ 5°N de latitude (fig. 1). Il est représenté, pour l'essentiel, par la lagune Ebrié d'une surface totale de 523 km² pour un volume de 2,58 km³ (sur 566km² et 2,72 km³ pour la totalité du système lagunaire, Varlet, 1978). C'est une lagune ouverte, en communication permanente avec l'océan par le canal de Vridi (volume d'échange annuel 38 km³ en 51-52 d'après Varlet, 1978) et de manière saisonnière par le Grau de Bassam (exutoire naturel du Comoé, réouvert en 1988). Le milieu lagunaire présente donc un caractère estuarien sur une large zone de part et d'autre du canal de Vridi. La lagune Ebrié est, de plus, largement soumise aux apports continentaux par un fleuve de régime soudanien, le Comoé (4,1 km³/an), à l'extrémité Est et des rivières de type Guinéen comme l'Agnéby et la Mé (0,9 km³/an).

De faible profondeur moyenne et très étirée, la lagune Ebrié présente donc des surfaces et des volumes d'échanges considérables par rapport à son volume total. Ces échanges sont répartis entre les quatre milieux-frontières l'atmosphère, le continent, l'océan et les sédiments, auxquels il faut ajouter l'activité humaine. L'importance de ces échanges vis-à-vis du volume total, associée à la multiplicité des frontières, entraîne une variabilité temporelle et spatiale très marquée.

b. Variabilité

Variabilité des paramètres physico-chimiques

Variabilité temporelle :

L'hydroclimat, c'est à dire l'ensemble des variations climatiques affectant les milieux frontières et le milieu lagunaire, définit une variabilité à moyenne et grande échelle : Saisonnière et interannuelle. A plus courte échelle, les cycles de marées et les alternances morte-eau/vive-eau induisent une forte variabilité dans les parties estuariennes.

- à courte échelle :

Dans les parties estuariennes, les marées de périodicité semi-diurne à inégalité diurne imposent des variations d'hydrodynamisme, de salinité et de température. A ces variations se superposent celles induites par l'évolution semi-synodique de l'amplitude des marées (Tastet, 1974, 1979 ; Gallardo, 1978 ; Varlet, 1978). La marée saline semble s'amortir rapidement avec l'éloignement au canal de Vridi. A l'opposé, la marée dynamique se transmet jusqu'aux extrémités les plus continentales de la lagune (Tastet, 1974). Si l'hydrodynamisme de la lagune Ebrié est assez mal connu, celui de la baie de Biétri a fait l'objet d'études plus achevées (Lemasson *et al.* 1981 ; Guiral et Lanusse, 1984 ; Arfi *et al.* 1987 ; Guiral *et al.* 1987 ; Arfi & Guiral, 1991). Dans un milieu d'aussi faible profondeur moyenne, le régime des vents, caractérisé par des variations jour/nuit importantes et des directions généralement perpendiculaires à l'axe de la lagune, est également source de variabilité à courte échelle.

1 : en 1977 d'après Dufour, (1982)

- saisonnaire et interannuelle

L'hydroclimat de la lagune Ebrïé a été décrit par Dufour (1982) et Durand et Chantraîne (1982). Les grandes lignes en sont résumées en Tableau 1 (tiré de Dufour, 1982). Très schématiquement, les saisons "lagunaires", sont au nombre de quatre :

- La grande saison d'étiage s'étend de janvier à avril. Les apports continentaux sont minimaux (étiage du Comoé et des rivières guinéennes). L'influence marine est prédominante en zone estuarienne. La température, l'ensoleillement, la salinité et l'évaporation sont maximaux.

- La saison des pluies dure de mai à juillet. La salinité diminue en raison des précipitations locales et de la grande crue des fleuves guinéens. L'ensoleillement est atténué. L'upwelling côtier en fin de saison refroidit l'atmosphère. La température des eaux lagunaires diminue.

- La petite saison d'étiage, d'août à septembre, correspond à la petite saison sèche du domaine Guinéen, et est caractérisée par une remontée de la salinité souvent peu marquée.

- La saison de crues s'étend d'octobre à décembre. Les apports continentaux sont prédominants. Ils sont caractérisés par la crue du Comoé, relayée par la crue secondaire des fleuves guinéens et les précipitations locales au cours de la petite saison des pluies en novembre. La salinité de la zone estuarienne atteint son minimum et la turbidité son maximum.

Cette évolution saisonnière est toutefois considérablement modulée par des variabilités régionales et interannuelles marquées (Dufour, 1984).

Frontières		Mois											
		Janv.	Fev.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
ATMOSPHERE	Température	Petite saison froide		Grande saison chaude			Grande saison froide			Petite saison chaude			
	Précipitations domaine guinéen	Grande saison sèche		tornades		Grande saison des pluies		Petite saison sèche		Petite saison des pluies		Grande saison sèche	
	Précipitations domaine soudanais	Saison sèche						Saison des pluies		Saison sèche			
	Evaporation mm	<100		>100		<100				>100		<100	
	Vents dominants	WSW 2 m/s				SW 2 m/s			WSW 2.5 m/s		SW 1 m/s		
OCEAN		Petite saison froide		Grande saison chaude			Grande saison froide			Petite saison chaude			
CONTINENT	Rivières guinéennes	Grande saison d'étiage			Grande saison de crues			Petite saison d'étiage		Petite saison des crues			
	Fleuve Comoé	Saison d'étiage						Saison de crues			étiage		
LAGUNE		Grande saison d'étiage			Saison des pluies			Petite s. étiage		Saison des crues			

Les données concernant le vent sont issues d'une compilation par L. Lemasson (comm. pers.) des mesures de l'Ascna à l'aéroport d'Abidjan.

Tableau 1.1 : Découpage saisonnier de l'hydroclimat lagunaire et de ses principaux facteurs (Dufour, 1982)

Variabilité spatiale :

Dans les systèmes lagunaires, il existe généralement une zonation horizontale en fonction des communications avec l'océan, les fleuves et le milieu terrestre et parfois une zonation verticale (discontinuités de salinité, température, oxygénation) dépendant de la topographie, de l'hydroclimat et de l'état trophique.

En lagune Ebrié, un découpage sur des bases géomorphologiques et physico-chimiques a permis de distinguer six régions lagunaires (fig.1.1). Au sein de ces régions, de fortes variations spatiales et saisonnières subsistent, notamment dans les baies et aux embouchures des rivières.

b. Variabilité des paramètres biologiques

Les variabilités spatiales et temporelles des caractéristiques physiques et chimiques se répercutent à l'évidence sur les caractéristiques biologiques. Celles-ci sont définies, d'une part, par les contraintes physico-chimiques, d'autre part, par les apports d'origine humaine variables selon les sites (déchets urbains, industriels, agricoles ...).

Plusieurs auteurs ont adopté, pour leur étude biologique, le découpage en six zones lagunaires (Plante-Cuny, 1977 pour le phytobenthos, Durand *et al.* 1978 pour la production tertiaire, Dufour, 1987 pour la production primaire pélagique ; Pagano et Saint-Jean, 1988 pour le zooplancton).

L'influence des apports anthropiques est nettement perceptible en zone urbaine notamment en baie de Biétri où sont déversés actuellement l'essentiel des rejets urbains (de l'ordre de 260 t j⁻¹ de DBO, Arfi et Guiral, 1991). L'influence de ces charges polluantes a un impact considérable sur toute la chaîne trophique (Dufour *et al.* 1981).

A l'échelle lagunaire, cette variabilité exclut une approche globale, en particulier pour les études microbiologiques dont l'acquisition des paramètres descriptifs implique un coût élevé. Par contre, elle présente l'avantage d'offrir, dans un périmètre restreint, des milieux de richesses trophiques variées, dont la comparaison permet de cerner le fonctionnement de l'écosystème.

3. Etudes microbiologiques déjà réalisées en lagune Ebrlé

- L'activité hétérotrophe a été déterminée, au cours de quelques campagnes échelonnées de 1975 à 1977 par l'utilisation de ^{14}C -glucose (Pagès et Lemasson, 1981). La vitesse de disparition du traceur était corrélée à la concentration en carbone particulaire (Cp) détritique (caractérisé par le rapport Cp/ATP) et l'activité spécifique (exprimée par unité de Cp) ainsi que la proportion de glucose respiré était fonction inverse du rapport C/N/P (donc du caractère réfractaire) de la matière organique dissoute. Par la suite, l'importance pressentie des activités bactériennes en milieu lagunaire a été confirmée par des études qualitatives sur les bactéries hétérotrophes aérobies (BHA) (Carmouze & Caumette, 1985 ; Caumette *et al.* 1991) et plus quantitatives sur le cycle du soufre (Caumette, 1985).

- Le dénombrement des BHA capables de se développer sur milieux de culture a montré que leur abondance était élevée dans le milieu lagunaire, de l'ordre de 10^5 ml^{-1} . Cette approche a permis de décrire des aspects qualitatifs concernant les flores hétérotrophes présentes, comme l'évolution saisonnière de l'abondance des BHA capables de croître sur milieux de cultures doux et salés, en relation avec l'évolution de la salinité, ainsi que les principaux groupes isolés aux différentes saisons avec leurs caractéristiques trophiques.

Le cycle du soufre a été abordé sous un aspect plus quantitatif. Les communautés hétérotrophes sulfatoréductrices montrent une activité minéralisatrice importante dans l'hypolimnion anaérobie des zones estuariennes polluées. Dans certaines zones de la Baie de Biétri elle peut être du même ordre que la production primaire dans l'épilimnion. Les activités sulfo-oxydantes sont également importantes à l'interface hypolimnion anoxique - épilimnion oxygéné (bactéries chimiotrophes et surtout phototrophes). L'activité des bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes, notamment, semble pouvoir compléter de manière significative la production primaire phytoplanctonique, d'autant plus qu'elles semblent consommées efficacement par le zooplancton (Caumette *et al.* 1983).

III. APPROCHE DU TRAVAIL

1. Définition des paramètres à étudier

L'importance quantitative des processus hétérotrophiques bactériens dans les flux de matière et d'énergie est une réalité dans la plupart des écosystèmes aquatiques marins ou continentaux (revue par Cole *et al.* 1988). Dans les milieux recevant de fortes charges allochtones en matière organique (apports par les fleuves, déchets urbains et rejets agro-industriels) leur rôle est potentiellement plus important encore car ils sont les intermédiaires obligés entre la matière organique détritique et les autres compartiments de la chaîne trophique. De plus, dans ces milieux, la turbidité des eaux limite la production photosynthétique. Les questions peuvent donc être posées de la manière suivante :

- 1) Quelle est l'importance quantitative des bactéries hétérotrophes?
- 2) Quelle incidence sont-elles susceptibles d'avoir sur la chaîne trophique lagunaire?

La réponse à la première interrogation peut être approchée par la détermination de la biomasse bactérienne et des flux entrants (activité hétérotrophe et production de biomasse) et leur comparaison avec la biomasse et la productivité du phytoplancton.

La réponse à la deuxième question implique de connaître la nature du contrôle de la biomasse bactérienne. Elle peut être contrôlée en amont par la disponibilité nutritive, ou en aval par ses exportations (prédation ou sédimentation (pour les bactéries fixées)). Il est donc nécessaire d'estimer les différents flux de sortie du compartiment bactérien et de les comparer à la production de biomasse.

L'estimation du rôle des BHA dans un milieu nécessite donc une approche quantitative plus précise que celle fournie par les techniques culturales classiques dont les phases successives d'enrichissement et d'isolement sont trop sélectives pour avoir un intérêt dans l'étude des flux. Globalement l'approche quantitative idéale passe par l'estimation :

- de la biomasse
- des flux entrants : activité hétérotrophe et production de biomasse
- des flux sortants : mortalité, prédation, sédimentation et exportations latérales

Afin de les comparer aux flux traversant l'ensemble de la chaîne trophique, les flux traversant le compartiment bactérien sont en général exprimés en terme de carbone, alors qu'aucune méthode connue ne permet d'y accéder directement (à l'inverse de la fixation autotrophe de ^{14}C pour déterminer la productivité du phytoplancton). L'importance que l'on peut attribuer au rôle des BHA dans le fonctionnement de l'écosystème dépend donc largement, d'une part, de l'applicabilité des méthodes employées, d'autre part, des facteurs de conversion utilisés, très souvent issus de la littérature.

Les milieux eutrophes tropicaux sont encore peu étudiés, la spécificité de la lagune Ebré a donc justifié la vérification, quand elle était possible, d'un certain nombre d'hypothèses préalables, ce qui explique l'importance relative du chapitre méthodologie.

2. Limites dues aux caractéristiques du milieu lagunaire

Approche du travail

Comme dans la plupart des milieux lagunaires, la variabilité spatiale et temporelle est considérable en lagune Ebrié. Cette variabilité impliquerait une stratégie d'échantillonnage complexe. Malheureusement, l'acquisition des paramètres bactériologiques, peu ou pas automatisée, est actuellement coûteuse en temps et en matériel. Il est donc important de se limiter à l'étude de phénomènes, sans espérer pouvoir décrire le fonctionnement des bactéries hétérotrophes aérobies à l'échelle de la lagune, à l'inverse de ce qui a pu être fait pour le phytoplancton (Dufour, 1984).

La faiblesse des moyens analytiques disponibles au CRO a conduit à privilégier les études *in situ*. L'étude de discontinuités peut en effet permettre, d'une part, de préciser la représentativité des mesures, d'autre part, de définir les relations entre la variabilité des paramètres bactériens et les évolutions des conditions environnementales. Il a donc été choisi d'étudier les phénomènes bactériens en quelques situations caractéristiques d'une époque et d'un biotope, en relation avec les conditions de milieu et les paramètres biologiques.

Globalement trois séries d'expérimentations ont ainsi été réalisées sur le terrain :

1 - L'étude des variations journalières en surface

Lors de cette série d'expérimentations en 1989, le premier objectif était de préciser la variabilité à courte échelle, en milieu fermé (mésocosme) et ouvert (lagune) afin : d'une part, de préciser la représentativité d'une mesure ponctuelle, à l'échelle de la journée (en dissociant la variabilité nyctémérale de celle induite par l'hydrodynamisme), d'autre part, d'établir, à travers la variabilité probable des sources nutritives à cette échelle (exsudation phytoplanctonique de jour, "sloppy feeding" et excrétion zooplanctonique de nuit), l'importance de ces sources dans l'activité globale bactérienne.

La spécificité des communautés bactériennes étudiées en trois sites, chacun caractéristique d'une zone lagunaire, à trois saisons lagunaires ont en outre permis de préciser quelques aspects du fonctionnement du compartiment microbien.

2 - L'étude de la variabilité verticale - profils verticaux

La représentativité à l'échelle de la journée d'une mesure ponctuelle étant connue, l'étude de la structure verticale a permis, en comparant les productivités primaire et bactérienne intégrées par unité de surface, d'appréhender l'importance des flux traversant le compartiment hétérotrophe bactérien aux sites et aux époques décrits plus haut.

3 - L'étude d'une variabilité à échelle de temps moyenne

Influence de la déstratification en baie de Biétri

Dans les zones les plus profondes de la baie de Biétri, l'influence conjuguée de l'océan et du Comoé induit une stratification de densité de la colonne d'eau 10 mois par an. La pycnocline délimite un épilimnion oxygéné et un hypolimnion anoxique. L'influence de l'homogénéisation annuelle de la colonne d'eau, période de changements physiques et chimiques majeurs dans l'écosystème, sur les activités et biomasses bactériennes a été étudiée en janvier 1987.

Parallèlement diverses expérimentations ont été réalisées *in situ* et en laboratoire afin de tester et d'adapter les méthodes utilisées. Celles-ci sont décrites dans le chapitre méthodologie.

Chapitre 2 - METHODOLOGIE

A - BIOMASSE BACTERIENNE

I. DENOMBREMENTS

1. Communauté totale
2. Bactéries fixées et libres

II. VOLUME CELLULAIRE MOYEN

1. Détermination
2. Etalonnage

III. CONVERSION DU BIOVOLUME EN BIOMASSE

1. Contexte
2. Approches utilisées
 - a. Bactéries en culture
 - b. Bactéries in situ
3. Conclusion

B - PRODUCTION DE BIOMASSE BACTERIENNE INCORPORATION DE THYMINES

I. INTRODUCTION

1. Principe
2. Critères d'applicabilité de la méthode
3. Conclusion

II. METHODOLOGIE EMPLOYEE

1. Incorporation dans les macromolécules
 - a. Protocole standard
 - b. Activité de la fraction fixée
 - c. Saturation
 - d. Linéarité
 - e. Dilution isotopique
2. Nature des macromolécules marquées - extraction de l'ADN
 - a. Introduction
 - b. Matériel et méthodes
 - c. Résultats et discussion
 - d. Conclusions

III. CONVERSION DE L'INCORPORATION DE THYMINES EN PRODUCTION DE BIOMASSE BACTERIENNE

1. Introduction
 - a. Le calcul théorique
 - b. Détermination empirique dans un système de calibration
 - c. Validation par une méthode indépendante
2. Approche utilisées en lagune Ebré
 - a. Détermination empirique
 - b. Validation du facteur de conversion par la consommation d'oxygène

IV. CONCLUSION

C - DETERMINATION DE LA PREDATION SUR LES BACTERIES

I. CONTEXTE

II. METHODES DEVELOPPEES

III. RESULTATS

1. Disparition de l'ADN bactérien marqué
 - a. Principe
 - b. Réalisation en lagune Ebrié
2. Inhibiteur des eucaryotes
3. Inhibiteurs des procaryotes
 - a. Principe
 - b. Test d'efficacité des antibiotiques

D - ACTIVITE DU SYSTEME DE TRANSPORTS D'ELECTRONS (ETS)

I. INTRODUCTION ET PRINCIPE

II. PROTOCOLE EMPLOYE

1. Prélèvement stockage
2. Préparation de l'extrait cellulaire
3. Réalisation du test
4. Calculs
5. Efficacité de rétention des bactéries

E - AUTRES PARAMETRES

I. CONCENTRATION EN PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

II. PRODUCTION PRIMAIRE

III. CARBONE ET AZOTE PARTICULAIRES

IV. RESPIRATION ET PRODUCTION D'OXYGENE

A - DETERMINATION DE LA BIOMASSE BACTERIENNE

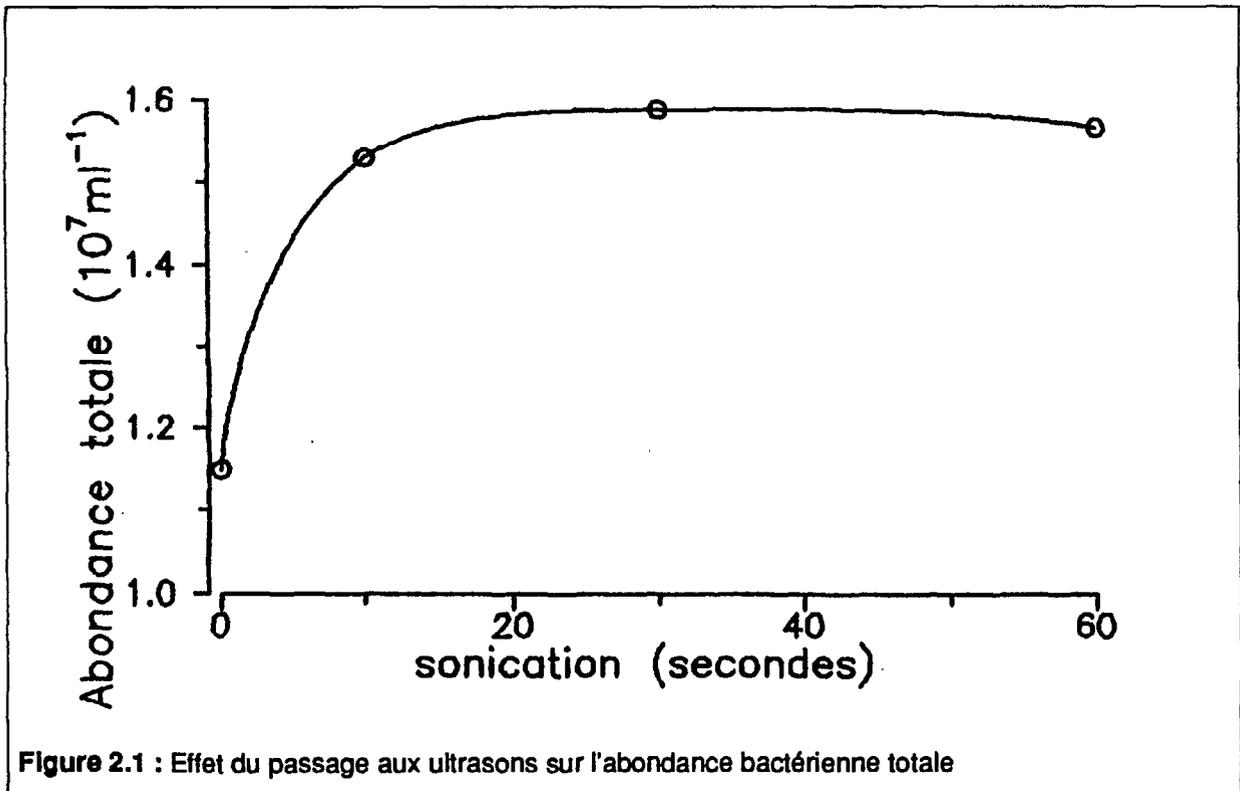
I. DENOMBREMENTS

Les dénombrements des effectifs ont été réalisés par comptage direct de la totalité des cellules bactériennes au moyen de la microscopie en épifluorescence (Hobbie *et al.* 1977).

1. Communauté totale

Les échantillons (6 ml) sont fixés immédiatement après le prélèvement avec 0,5 ml de formol (37%) saturé en borate de sodium (concentration finale 3% dans l'échantillon) et conservés à 4°C jusqu'au comptage.

Les agrégats bactériens et les bactéries liées aux particules sont dissociées en suivant la procédure décrite par Velji & Albright (1986). Au moment du comptage les échantillons reçoivent 0,3 ml de pyrophosphate de sodium 20 mM (1 mM concentration finale) et sont laissés au moins 20 minutes à température ambiante avant la sonication au moyen d'une sonde à ultrasons. Le traitement est effectué dans la glace pendant 30 secondes. Des essais préalables ont en effet montré que le nombre de bactéries se stabilisait à partir de cette durée (Fig. 2.1).



Les filtres en polycarbonate (Nuclepore, porosité 0,2 μm) sont teints en noir par immersion pendant au moins 24 h dans une solution de Noir d'Irgalan (2 g l⁻¹, acide acétique 2 %). Après rinçage ils sont montés sur la tourelle avec un sous filtre mouillé avec de l'eau préfiltrée (Millipore GF/F ou Whatman 0,45 μm). Ils reçoivent 4 ml d'eau déminéralisée préfiltrée et 0,5 ml de DAPI à 10 mg l⁻¹ (Di-Amino-Phényl-Indole, Porter & Feig, 1980). Les échantillons (0,1 à 0,5 ml) sont alors déposés dans la tourelle à filtration et laissés 10 minutes à colorer. Après la filtration sous faible dépression (< 10 cm de Hg), les échantillons sont rincés par 2 ml d'une solution de Tris pH 9 qui améliore la fluorescence. Les membranes sont alors montées entre lame et lamelle avec de l'huile à immersion non fluorescente (Olympus). Les dénombrements sont effectués au plus tard 24 h après la coloration.

Le système utilisé est constitué d'un microscope Olympus BH-2 équipé d'un objectif à immersion (grossissement final 1250) et d'une lampe à vapeur de mercure de 100 W avec un filtre d'excitation Violet et un filtre d'arrêt L435.

Les bactéries sont dénombrées sur au moins 20 champs comprenant 30 à 60 bactéries. Des duplicats réalisés occasionnellement diffèrent en moyenne de 15%.

2. Distinction des communautés fixées et libres

Des essais préalables ont montré que les effectifs bactériens passant à travers des membranes de porosité 1 μm étaient légèrement inférieurs à ceux passant à travers des membranes de porosité 3 μm . L'examen microscopique montre qu'aucune particule n'est visible dans le filtrat 3 μm . La différence est essentiellement due au colmatage plus rapide des membranes 1 μm qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation des effectifs libres. De plus seules les particules organiques supérieures à 3 μm peuvent présenter une vitesse de sédimentation significative dans l'étude des exportations bactériennes (d'après la loi de Stokes, des particules sphériques de diamètres respectifs 1 et 3 μm sédimentent avec des vitesses de 0,03 et 0,22 m j⁻¹ pour une densité de 1,5). Les membranes de porosité 3 μm ont donc été choisies pour distinguer communautés fixées et libres.

Immédiatement après l'apport de formol, une partie de l'échantillon est tamisée sur membrane en polycarbonate de porosité 3 μm (Nuclepore) sous une dépression inférieure à 5 cm de Hg. Les membranes ne sont pas rincées pour éviter l'incertitude due au volume restant accroché aux parois du système de filtration. L'abondance bactérienne des bactéries libres est déterminée sur le filtrat selon la procédure décrite plus haut. L'abondance des bactéries fixées est estimée par la différence entre abondance totale et abondance des communautés libres.

II. VOLUME CELLULAIRE MOYEN

1. Détermination

Les volumes cellulaires sont déterminés d'après photographie selon le protocole suivant. Les préparations microscopiques, réalisées comme décrit ci-dessus sont photographiées sur film Ektachrome 400 ASA (temps d'exposition 20 secondes). Au moins 4 diapositives de champs contenant au moins 50 bactéries sont réalisées par échantillon. Les diapositives sont projetées sur un tableau avec un agrandissement final constant, déterminé en projetant la photographie d'un réticule (grossissement final 13200). Les contours des bactéries nettes sont délimités au marqueur pour faciliter la mesure. Au total la longueur (a) et la largeur (b) d'au moins 150 bactéries sont mesurées pour chaque échantillon. Le volume (V) est calculé en assimilant toutes les bactéries à des cylindres comprenant une demi-sphère à chaque extrémité selon la formule $V = \pi a^2(3b-a)/12$ (fig. 2.2).

Avec ce protocole, la différence des volumes cellulaires moyens déterminés sur deux séries de photographies d'un même échantillon est d'environ 20%.

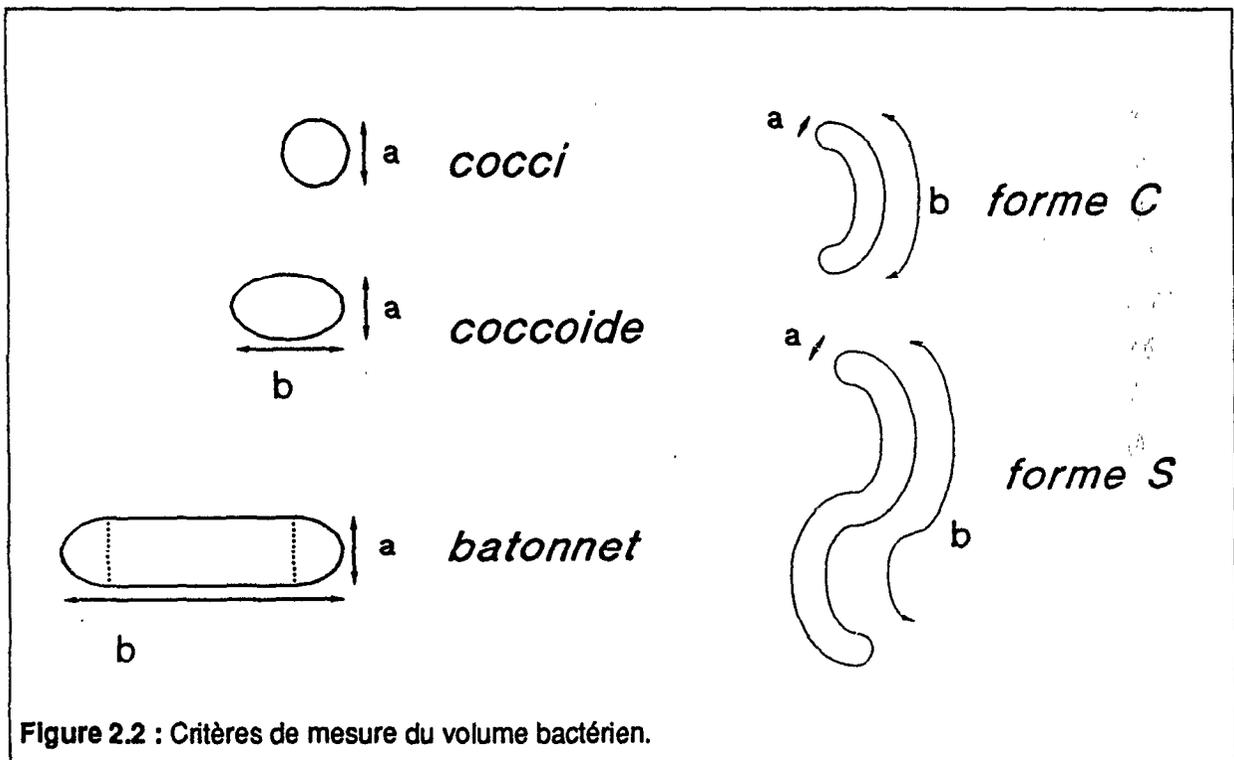


Figure 2.2 : Critères de mesure du volume bactérien.

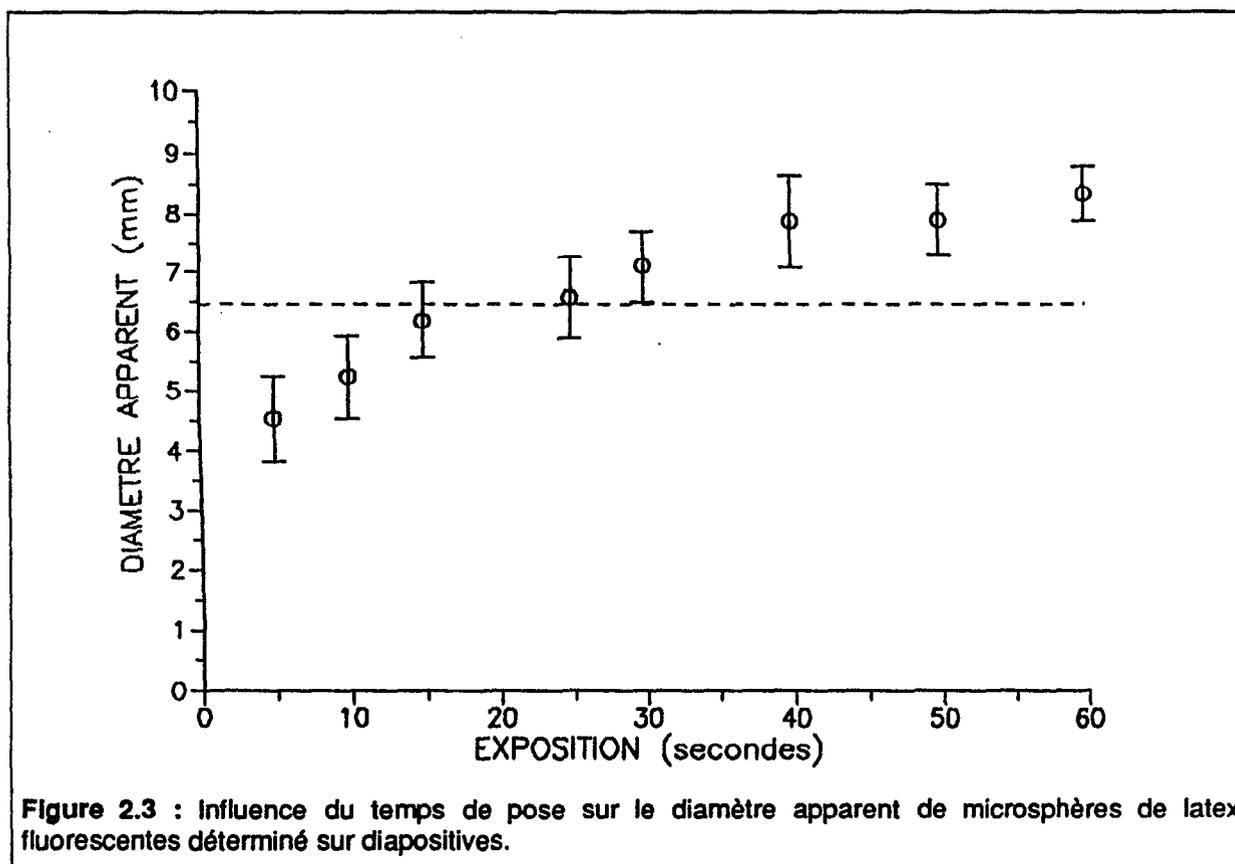
2. Etalonnage

Quelle que soit la méthode utilisée pour déterminer le volume cellulaire, il est important de la calibrer. Les objets photographiés émettent une lumière et leur dimension apparente dépend donc de la quantité de lumière reçue sur la surface sensible. L'étalonnage est en général effectué sur des préparations entre lame et lamelle de sphères de latex fluorescentes de diamètre connu.

La figure 2.3 montre l'évolution du diamètre apparent de sphères fluorescentes (*Polysciences corp.*, diamètre nominal 0,49 μm) photographiées avec des durées d'exposition croissantes et

mesurées avec l'agrandissement final (13200) employé pour les bactéries. La taille moyenne apparente augmente avec la durée d'exposition et donc avec la quantité de lumière reçue par le film. Toutefois, les sphères émettent une fluorescence plus intense que celle des bactéries colorées au DAPI. Les temps d'exposition ne peuvent donc pas être comparés avec ceux utilisés pour les bactéries. Afin d'obtenir un élément de comparaison avec la luminosité des bactéries mesurées, la luminosité des sphères a été déterminée directement sur les diapositives. Les diapositives étaient disposées sous l'objectif d'un microscope et étaient illuminées par le bas. Le diaphragme de la source lumineuse était fermé au maximum délimitant chaque sphère. La lumière transmise à travers chaque sphère (au grossissement 200) était alors déterminée à l'aide d'une cellule de mesure, et exprimée en inverse de temps de pose (Tab. 2.1a). La mesure était répétée pour 20 sphères choisies au hasard sur chaque diapositive.

Une relation simple semble relier, de manière satisfaisante, luminosité moyenne et diamètre apparent des sphères sur diapositive (Fig. 2.4). Cette procédure a été répétée, avec les mêmes réglages, sur 20 cellules de même diamètre apparent provenant de diapositives d'assemblages bactériens issus de la lagune Ebré (10 échantillons) et de cultures de dilution (10 échantillons, voir chap.2 étalonnage thymidine/production bactérienne) (Tab. 2.1b).



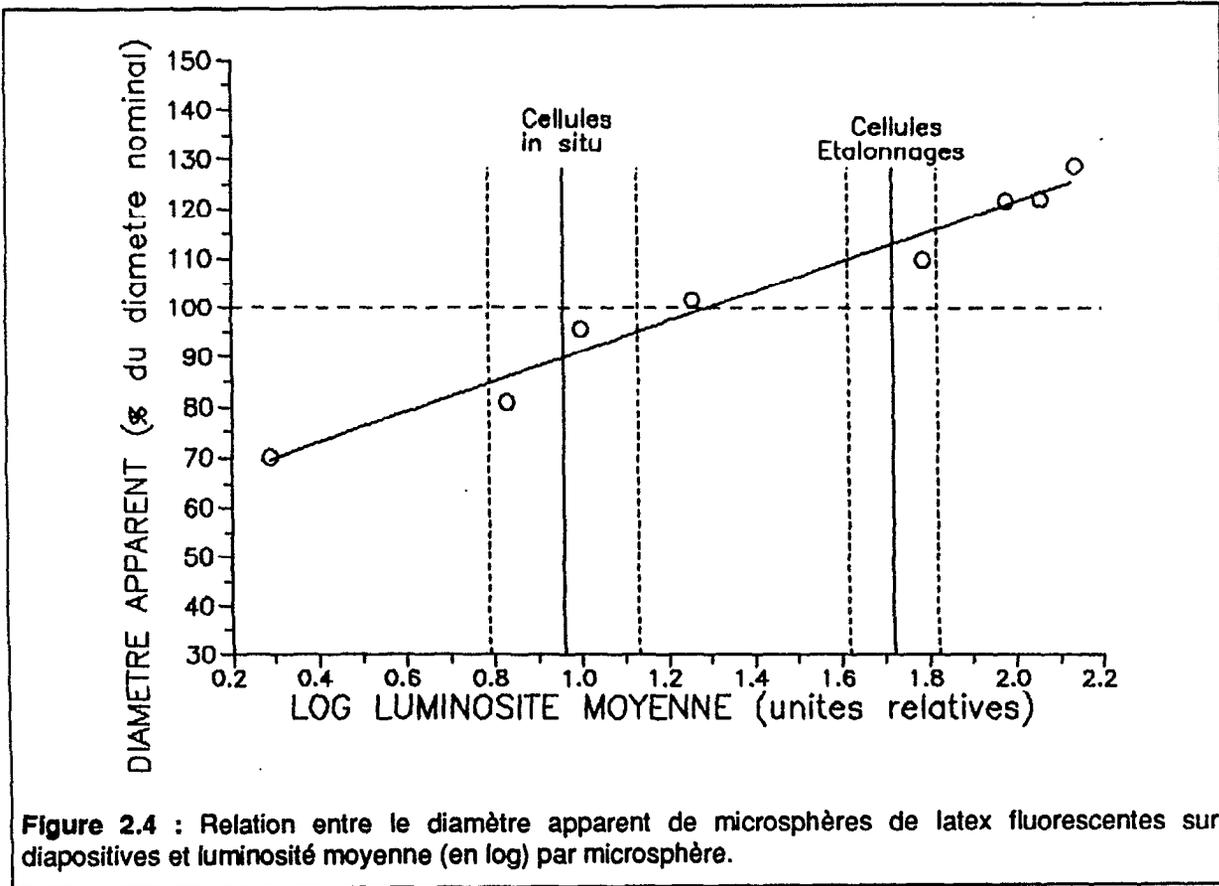


Tableau 2.1a : Luminosité (unités arbitraires) par microsphère en fonction du temps de pose.

Durée d'exposition (secondes)	Diamètre mesuré			Luminosité par sphère			Log(luminosité par sphère)	
	MOYENNE (mm)	E.-TYPE (mm)	N	MOYENNE (unités relatives (a))	E.TYPE	MOYENNE	E.TYPE	N
5	4.5	0.7	78	2.8	0.6	0.44	0.10	20
10	5.2	0.7	80	8.1	2.7	0.88	0.15	20
15	6.2	0.6	48	11.2	3.0	1.03	0.12	20
25	6.6	0.7	48	19.9	5.1	1.28	0.12	20
30	7.1	0.6	102	64.2	17.4	1.79	0.12	20
40	7.9	0.8	52	97.0	5.7	1.99	0.03	20
50	7.9	0.6	52	117	19.5	2.06	0.07	20
60	8.3	0.5	50	139	18.8	2.14	0.06	20

(a) : Luminosité exprimée en 1/temps de pose en s (cellule sur 400 ASA)

Tableau 2.1b : Luminosité (unités arbitraires) par bactérie dans 10 échantillons issus d'étalonnages et du milieu lagunaire.

Cellules (a) In situ	Log(luminosité par bactérie)			Cellules (a) en cultures	Log(luminosité par bactérie)		
	moyenne	E.-Type	N		moyenne	E.Type	N
B1.4<3	0.69	0.37	20	B4.T3	1.57	0.19	20
B1.7<3	0.79	0.23	20	B4.T3	1.81	0.19	20
B2.3	0.71	0.26	20	B5.T3	1.60	0.17	20
B3.5	0.75	0.17	20	B3.T2	1.53	0.18	20
A1.3	1.21	0.26	20	A3.T3	1.71	0.22	20
A1.11	1.20	0.26	20	A2.T4	1.75	0.23	20
A2.10	1.24	0.23	20	A1J1.T4	1.70	0.25	20
M3.2	1.13	0.25	20	A1J1.T2	2.03	0.16	20
M3.2<3	1.15	0.25	20	M1J2.T3	1.74	0.26	20
M3.4<3	0.74	0.25	20	M1J2.T4	1.77	0.25	20
Moyenne	0.96				1.72		
Ecart-Type	0.24				0.14		

(a) : Désignation des échantillons voir chap.3 cycles et chap.2 paragraphe étalonnages thymidine/cellules

Sans prétendre chiffrer avec précision le biais réalisé il est facile de constater que celui-ci est différent selon l'origine des échantillons (lagune ou cultures, voir fig. 2.4). Les dimensions des bactéries en culture semblent être surestimées d'environ 13% (10 à 16% limites pour $\alpha=0.05$, $n=10$) alors que celles des bactéries prélevées *in situ*, moins lumineuses, semblent sous-estimées d'environ 10% (5 à 15% limites pour $\alpha=0.05$, $n=10$). Ces différences sont probablement à relier à l'état physiologique des cellules. Les cellules en culture ont un contenu plus élevé en acides ribonucléiques (fixant le colorant fluorescent) et émettent vraisemblablement une luminosité plus importante par unité de volume.

Il est probable que ces corrections soient sous-estimées pour les dimensions inférieures à 0,49 μm , mais cela n'a que peu d'influence sur le volume moyen. De manière analogue, cette correction serait surestimée pour les dimensions supérieures.

Ces corrections ont donc été uniquement appliquées aux dimensions inférieures à 8 mm sur les diapositives (0.6 μm) car 95% des bactéries sphériques et 90% des bâtonnets ont une largeur inférieure à cette dimension.

III. CONVERSION DU BIOVOLUME EN BIOMASSE

1. Contexte

La conversion du volume bactérien en biomasse est sujette à de larges incertitudes. Jusqu'à récemment le rapport carbone/volume bactérien provenait conventionnellement des travaux de Ferguson & Rublee (1976) ($0,86 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$) et Watson *et al.* (1977) ($1,21 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$). Ces valeurs proviennent en fait de suppositions non vérifiées et de références très anciennes (voir Bjomsen & Riemann, 1988). Les déterminations directes effectuées plus récemment fournissent des valeurs plus élevées et ceci d'autant plus que le volume cellulaire moyen diminue. La figure 2.5 montre les valeurs obtenues avec des méthodes similaires (biovolumes par analyse d'image ou photographie, carbone par analyse CHN sauf Simon & Azam, 1989) par différents auteurs. A l'exception des résultats de Bratbak (1986), l'évolution générale du rapport carbone/volume avec le volume cellulaire individuel semble confirmer la relation proposée par Simon & Azam (1989)(fig. 2.5). Les larges incertitudes persistant dans la détermination de ce rapport sont probablement à attribuer, pour une grande part, au critère choisi pour déterminer les dimensions bactériennes (Lee & Fuhrman, 1987; Nagata & Watanabe, 1990) et à la rétractation mal connue des cellules sous l'action du formol (Lee & Fuhrman, 1987), sans pouvoir exclure les différences inhérentes aux peuplements bactériens eux-mêmes. Avec une approche très différente Norland *et al.* (1987) ont montré la même tendance. Les seules certitudes (relatives) que l'on puisse établir sont que :

- le rapport carbone/volume varie avec la taille des bactéries (Psenner, 1990)
- pour les petites cellules ($< 0,05 \mu\text{m}^3$) ce rapport est plus élevé que les valeurs conventionnellement utilisées de $0,86$ ou $1,21 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$.

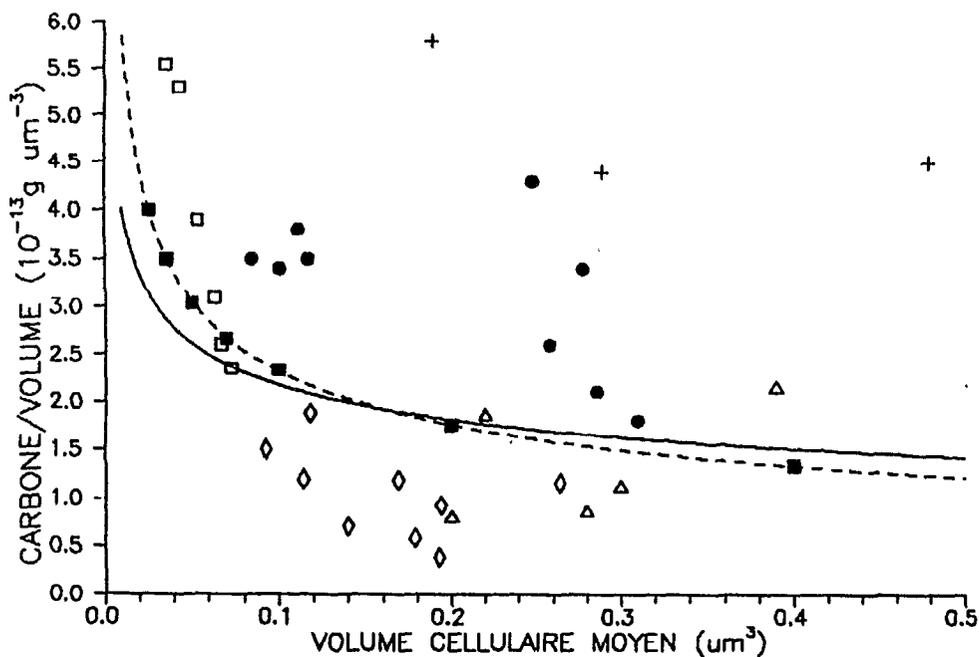
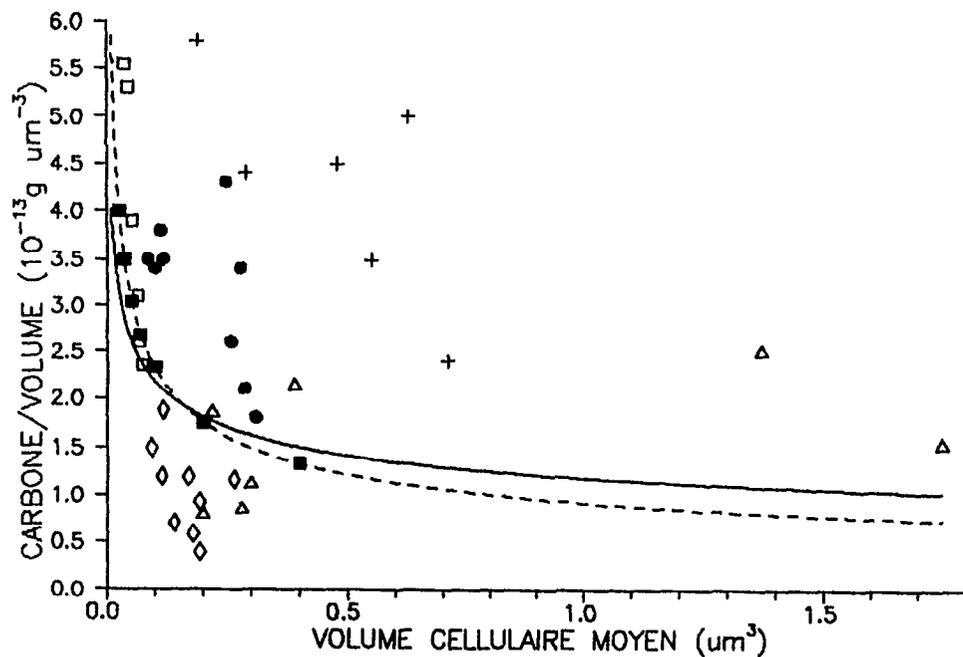


Figure 2.5 : Evolution du rapport carbone/volume avec le volume bactérien moyen.

(□) Lee & Fuhrman, 1987 ; (Δ) Nagata & Watanabe, 1990 ; (◇) Nagata, 1986 ; (●) Bjornsen, 1986 ; (+) Bratbak, 1986 ; (■) Simon & Azam, 1989.

Les courbes (puissance) représentent le meilleur ajustement selon Simon & Azam (trait discontinu) et le meilleur ajustement en utilisant toutes les données sauf celles de Bratbak (trait plein).

2. Approches utilisées

Des tentatives ont été effectuées pour estimer directement le rapport carbone/volume sur les communautés bactériennes issues de la lagune Ebrié. Deux approches ont été utilisées : (1) le rapport a été déterminé directement sur des cultures d'eau de lagune utilisées pour l'étalonnage de l'incorporation de thymidine et (2) les valeurs de carbone et d'azote particulaire (Cp et Np) déterminées dans trois classes de taille (total, < 3 µm, < 1 µm) sur des échantillons d'eau de la lagune, ont été comparées aux abondances bactériennes et aux concentrations en pigments photosynthétiques dans ces mêmes classes de tailles.

Dans les deux cas, les valeurs obtenues ne sont qu'indicatives car les valeurs de Cp et Np obtenues se situent à la limite de précision de l'appareillage utilisé. Un travail spécifique sur ce sujet serait nécessaire pour obtenir des valeurs plus précises. Les résultats obtenus ici permettent toutefois de se situer par rapport aux valeurs proposées dans la littérature.

a. Bactéries en culture

Deux expériences ont été réalisées. Au cours des étalonnages B4 et B5 (21 et 23/05/90), les biovolumes bactériens (bactéries retenues sur membranes Nuclepore de porosité 0,2 µm) et le Cp et Np (retenu sur filtres en fibre de verre Whatman GF/F, porosité nominale 0,7 µm) ont été déterminés simultanément. Les dénombrements et la détermination du biovolume bactérien dans le filtrat ont montré que pratiquement toute la biomasse bactérienne était retenue sur membrane GF/F, même en début de culture lorsque le volume cellulaire moyen est le plus faible (fig. 2.6).

Les résultats sont présentés en Tableau 2.2. Le rapport déterminé ainsi est en moyenne de $2,65 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$ (n=13, limites de l'intervalle de confiance à P=0,05 : 2,3 à 3,0). Le rapport carbone/volume bactérien semble également diminuer lorsque le volume individuel moyen diminue (fig. 2.7), bien que le nombre restreint de mesures limite la portée des résultats.

Echantillon	Cellules 10^9 l^{-1}	Volume moyen $\mu\text{m}^3 \text{cell.}^{-1}$	Biovolume $10^6 \mu\text{m}^3 \text{ l}^{-1}$	CP. Bactéries $\mu\text{gC l}^{-1}$	CP. Filtrat $\mu\text{gC l}^{-1}$	Cp.Bact -Filtrat $\mu\text{gC l}^{-1}$	CP/Vol. $10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$
21-5 T4	3.48	0.160	555	526	344	182	3.28
21-5 T5	3.41	0.207	705	472	269	203	2.88
21-5 T6	4.19	0.205	853	610	385	225	2.64
21-5 T7	13.4	0.169	2246	772	360	412	1.84
21-5 T8	22.7	0.157	3536	961	356	605	1.71
23-5 T2	1.88	0.073	137	250	206	44	3.21
23-5 T3	1.95	0.086	167	274	210	64	3.84
23-5 T4	2.09	0.101	210	300	236	64	3.04
23-5 T5	2.62	0.135	354	316	225	91	2.57
23-5 T6	2.54	0.157	399	357	261	96	2.40
23-5 T7	2.82	0.174	490	325	236	90	1.83
23-5 T8	3.90	0.188	733	366	179	186	2.54
23-5 T8	3.90	0.188	733	371	179	192	2.62
					moyenne		2.65
					écart-type		0.62
					N		13

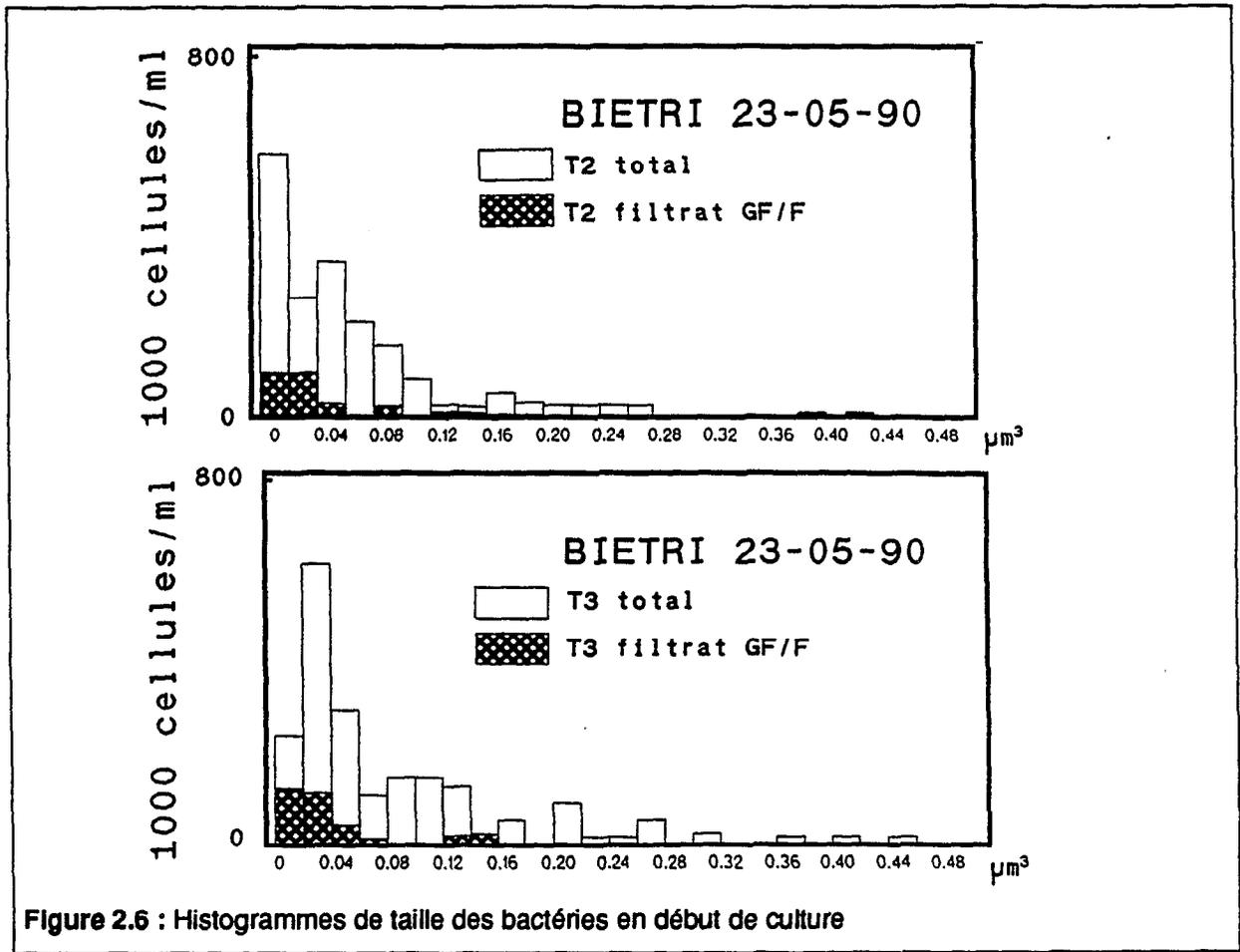


Figure 2.6 : Histogrammes de taille des bactéries en début de culture

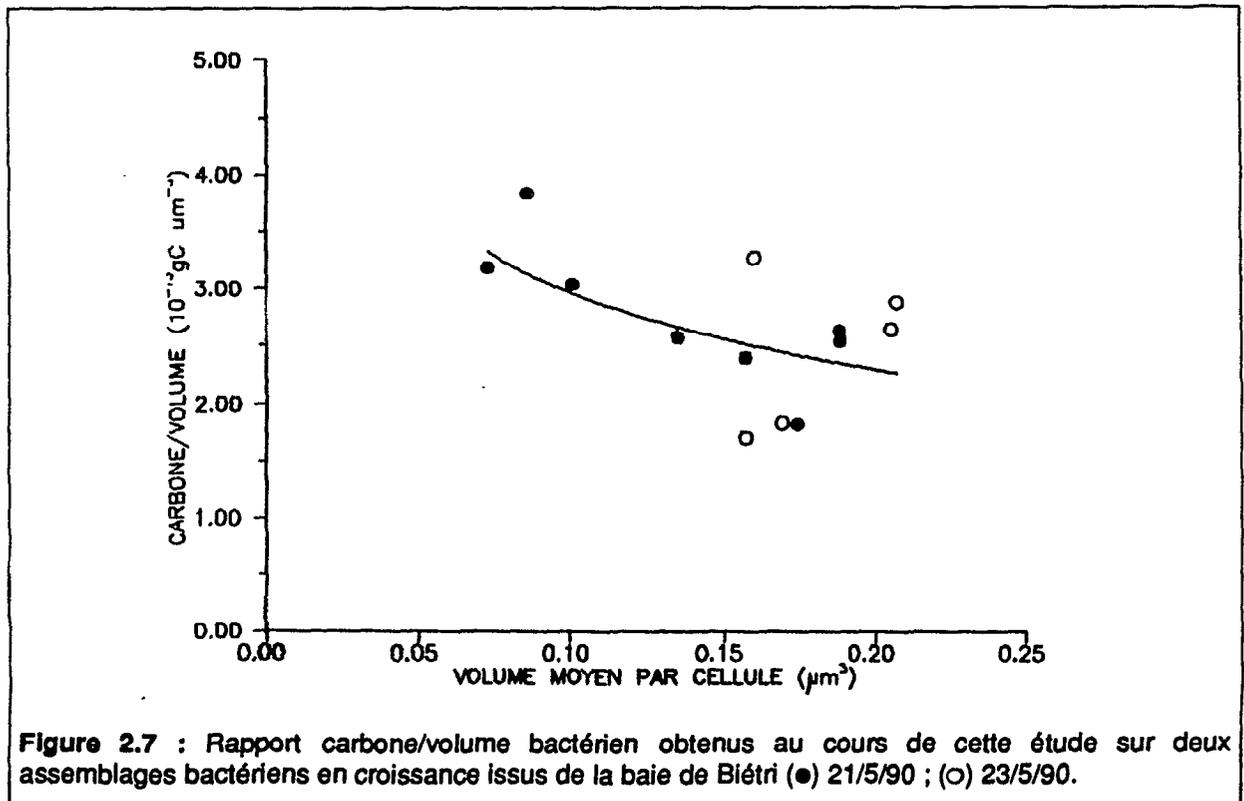


Figure 2.7 : Rapport carbone/volume bactérien obtenus au cours de cette étude sur deux assemblages bactériens en croissance issus de la baie de Biétri (●) 21/5/90 ; (○) 23/5/90.

b. Bactéries in situ

Les valeurs de Cp et Np obtenus par classes de tailles < 1 µm, 1-3 µm et > 3 µm ont été comparées avec les concentrations en pigments photosynthétiques et les abondances bactériennes dans les classes < et > 3 µm. On a supposé pour cela que : (1) Il existe une relation constante entre contenu en chlorophylle a et contenu en Cp du phytoplancton quelle que soit sa classe de taille. Soit : $Cp_{phyto} = k_{phyto} \cdot Chl.a$; (2) Dans la fraction < 3 µm, le Cp est composé pour l'essentiel de bactéries libres et de phytoplancton, soit : $Cp_{(<3)} = Cp_{phyto(<3)} + Cp_{bact(<3)}$. L'observation microscopique montre en effet que le matériel détritique est retenu par le tamisage sur membrane de porosité 3 µm ; (3) En l'absence de colmatage, l'essentiel des bactéries passant à travers une membrane de porosité 3 µm passe également à travers une membrane de porosité 1 µm, soit : $Cp_{bact(<3)} = Cp_{bact(<1)}$.

On peut alors écrire : $Cp_{(<3)} - Cp_{(<1)} = (Cp_{phyto(<3)} + Cp_{bact(<3)}) - (Cp_{phyto(<1)} + Cp_{bact(<1)})$,

soit $Cp_{(1-3)} = Cp_{phyto(<3)} - Cp_{phyto(<1)}$, donc $Cp_{(1-3)} = k_{phyto} \cdot Chl.a_{(<3)} - k_{phyto} \cdot Chl.a_{(<1)}$

donc $Cp_{(1-3)} = k_{phyto} \cdot (Chl.a_{(1-3)})$, d'où : $k_{phyto} = (Cp_{(1-3)}) / (Chl.a_{(1-3)})$

Une fois k_{phyto} déterminé il est possible de calculer le carbone bactérien dans la fraction inférieure à 1 µm : $Cp_{bact(<1)} = Cp_{(<1)} - Cp_{phyto(<1)}$ donc $Cp_{bact(<1)} = Cp_{(<1)} - k_{phyto} \cdot Chl.a_{(<1)}$

En divisant cette valeur par le biovolume des bactéries libres, on obtient une estimation du rapport carbone / volume bactérien en lagune. Ces calculs ont été appliqués aux données obtenues au cours de l'étude des variations nycthémerales d'activité bactérienne dans l'eau lagunaire (chap.3).

Les rapports carbone/chlorophylle obtenus sont en moyenne de 30,7 ($\pm 3,6$) gC/g Chl.a totale (n=45) et 39,5 ($\pm 5,2$) gC/g Chl.a "active" (n=45) (Tab. 2.3). Ce sont des valeurs faibles par rapport à celles reportées dans la littérature (Langdon, 1988) mais proches de celles obtenues par Lemasson *et al.* (1981) sur les mêmes sites. Les rapports azote/chlorophylle obtenus de manière identique sont en moyenne de 4,8 ($\pm 1,4$) gN/g Chl.a totale (n=27) et 5,3 ($\pm 1,6$) gN/g Chl.a "active" (n=27). Les rapports C/N pour le phytoplancton sont donc de 6,4 - 7,4 (gC/gN), des valeurs conformes à celles généralement reportées (Langdon, 1988). Le rapport carbone/chlorophylle, ainsi déterminé, ne semble pas montrer d'évolution avec les sites étudiés (les moyennes respectives des rapports C/Chl.a totale pour Abou-Abou, Biétri et Mopoyem ne sont pas significativement différentes au seuil 0,05).

Le rapport C/Chl.a totale de 30,7 a donc été utilisé au cours de cette étude pour convertir la concentration en chlorophylle a totale (active et dégradée) en carbone phytoplanctonique.

Seule l'abondance bactérienne totale a été déterminée à l'extérieur de l'enceinte où Cp et pigments photosynthétiques ont été déterminés sur différentes classes de taille. Toutefois, les abondances bactériennes fixées et libres ont été distinguées dans l'enceinte et la similitude des activités spécifiques de la communauté totale à l'extérieur et dans l'enceinte permet de supposer que les rapports des activités spécifiques respectives des communautés libres et fixées sont similaires. La proportion des bactéries libres à l'extérieur (BL/BT) a donc été extrapolée à partir de la proportion de l'activité libre (TL/TT) et du rapport des activités spécifiques respectives des communautés libres (ASL) et fixées (ASF) selon l'expression : $BL/BT = 1 / (1 - F + (F \cdot TT/TL))$ avec $F = ASL/ASF$.

On peut vérifier que $BL/BT = TL/TT$ quand $F = 1$ (activités spécifiques identiques des communautés libres et fixées).

Tableau 2.3 : Relation entre Cp, Np et pigments chlorophylliens par classes de taille

Ech.	Pigments ($\mu\text{g l}^{-1}$)				Carbone particulaire ($\mu\text{gC l}^{-1}$)				Azote particulaire ($\mu\text{gN l}^{-1}$)				Cp/ Pigm.	Np/ Pigm.	
	< 1	1-3	>3	total	< 1	1-3	>3	total	< 1	1-3	>3	total			
A1 6	2.8	8.4	9.8	21.0	518	143	459	1120	89	40	131	260	17.1	4.7	
A1 9	2.6	11.3	11.9	25.8	632	143	395	1170	79	-4	213	288	12.7	-0.3	
A1 12	3.0	9.0	13.2	25.2	375	358	267	1000	13	88	25	125	40.0	9.8	
A1 15	2.1	10.4	12.1	24.7	432	508	24	963	46	106	34	185	48.8	10.2	
A2 6	2.3	19.1	9.6	31.0	271	729	125	1125	0	237	-5	232	38.2	12.4	
A2 8	4.4	17.9	17.2	39.5	341	299	627	1267	91	34	75	200	16.7	1.9	
A2 10	3.0	18.6	13.4	35.0	424	293	83	800	34	23	63	120	15.8	1.2	
A2 12	3.2	20.2	9.8	33.2	250	342	197	789	162	2	-29	135	16.9	0.1	
A2 14	4.0	19.0	8.9	31.9	431	319	18	768	98	-7	34	125	16.8	-0.4	
A2 16	7.1	18.5	2.4	28.0	375	496	40	911	94	36	14	143	26.8	1.9	
A3 6	0.9	7.5	13.9	22.3	333	132	1410	1875	nd	nd	nd	650	17.6		
A3 8	1.4	6.6	19.1	27.1	252	208	1486	1946	nd	nd	nd	622	31.4		
A3 10	1.2	9.1	16.8	27.1	313	340	1260	1913	nd	nd	nd	783	37.3		
A3 12	1.0	8.8	15.9	25.6	396	70	1388	1854	nd	nd	nd	122	8.0		
A3 14	0.9	11.0	18.5	30.4	303	485	1187	1975	nd	nd	nd	716	44.0		
A3 16	1.2	9.0	14.3	24.5	354	212	1629	2195	nd	nd	nd	781	23.5		
B1 6	10.1	23.9	41.9	75.8	588	1279	1467	3333	252	215	19	486	53.6	9.0	
B1 9	3.9	34.1	55.3	93.3	464	1656	689	2808	133	265	82	480	48.5	7.8	
B1 12	3.1	33.3	59.2	95.6	537	1294	1837	3667	195	262	676	1133	38.8	7.9	
B1 15	2.5	37.3	47.6	87.5	933	1903	1564	4400	133	315	419	867	51.0	8.4	
B2 6	2.7	53.5	27.2	83.5	629	1743	429	2800	86	457	57	600	32.6	8.5	
B2 9	2.8	38.5	41.8	83.1	733	1410	1124	3267	167	214	486	867	36.6	5.6	
B2 12	7.5	40.1	49.9	97.5	1000	967	1874	3841	167	267	295	729	24.1	6.6	
B2 15	3.0	37.8	45.0	85.8	941	1059	1400	3400	157	76	633	867	28.0	2.0	
B3 6	1.8	50.1	73.9	125.8	767	975	5258	7000	nd	nd	nd	1000	19.5		
B3 8	1.4	65.1	68.1	134.7	793	981	4512	6286	nd	nd	nd	nd	15.1		
B3 10	1.6	39.6	97.2	138.4	667	774	5202	6643	nd	nd	nd	214	19.5		
B3 12	2.9	35.6	96.4	134.9	621	1279	5274	7174	nd	nd	nd	1522	36.0		
B3 14	3.3	34.0	107.2	144.4	613	1420	4726	6759	nd	nd	nd	414	41.8		
B3 16	3.2	32.5	98.0	133.6	600	1365	5518	7483	nd	nd	nd	350	42.0		
M1 6	0.9	26.1	2.4	29.4	600	761	331	1692	167	83	39	289	29.2	3.2	
M1 9	0.8	15.8	11.9	28.5	433	473	639	1546	133	117	23	273	30.0	7.4	
M1 12	0.9	24.2	5.6	30.7	533	800	496	1829	133	52	83	268	33.1	2.1	
M2 6	1.9	34.3	7.4	43.6	429	798	625	1852	143	57	41	241	23.3	1.7	
M2 8	10.6	35.6	8.0	54.2	600	733	451	1784	167	83	64	314	20.6	2.3	
M2 10	1.5	34.3	16.1	51.9	458	688	659	1805	63	84	146	293	20.1	2.4	
M2 12	1.9	37.7	13.6	53.2	354	914	851	2119	104	74	107	286	24.2	2.0	
M2 14	1.9	27.2	12.9	42.0	442	826	966	2234	70	101	148	319	30.4	3.7	
M2 16	1.9	21.4	26.5	49.8	581	612	847	2039	97	134	44	275	28.6	6.3	
M3 6	1.4	10.7	13.5	25.6	288	532	1012	1832	nd	nd	nd	nd	49.9		
M3 8	1.1	9.9	16.8	27.9	290	451	1341	2082	nd	nd	nd	286	45.4		
M3 10	1.6	16.8	11.9	30.2	340	800	1360	2500	nd	nd	nd	260	47.7		
M3 12	2.0	18.0	11.4	31.4	429	396	1815	2640	nd	nd	nd	550	22.0		
M3 14	0.4	20.8	11.8	33.0	360	771	1519	2650	nd	nd	nd	nd	37.1		
M3 16	1.6	12.2	12.9	26.7	380	509	1397	2286	nd	nd	nd	286	41.7		
													Moyenne	30.7	4.8
													Ecart-type	12.0	3.6
													N	45	27

nd : non déterminé

Tableau 2.4 : Relation entre Cp non phytoplanctonique et biovolume bactérien dans la classe de taille < 1 µm

CYCLE	HEURE	Pigments <1 µg l ⁻¹	Cp total <1 µg l ⁻¹	Cp Bact <1 µg l ⁻¹	Cellules libres 10 ⁹ l ⁻¹	volume/ cellule µm ³	biovolume bactérien 10 ⁹ µm ³ l ⁻¹	Carbone volume 10 ⁻¹³ gC µm ⁻³
A2	6	2.3	271	203	13.3	0.105	1.40	1.5
A2	8	4.4	341	212	10.5	0.105	1.10	1.9
A2	10	3.0	424	336	9.3	0.105	0.98	3.4
A2	12	3.2	250	156	10.5	0.105	1.10	1.4
A2	14	4.0	431	314	10.5	0.105	1.10	2.9
A2	16	7.1	375	167	9.4	0.105	0.99	1.7
M2	6	1.9	429	373	11.6	0.099	1.15	3.2
M2	8	10.6	600	289	11.9	0.099	1.17	2.5
M2	10	1.5	458	414	12.5	0.099	1.24	3.3
M2	12	1.9	354	299	11.1	0.099	1.10	2.7
M2	14	1.9	442	386	13.0	0.099	1.29	3.0
M2	16	1.9	581	525	14.7	0.099	1.45	3.6
A3	6	0.9	333	306	10.3	0.101	1.04	3.0
A3	8	1.4	252	210	10.4	0.101	1.05	2.0
A3	10	1.2	313	278	8.5	0.101	0.86	3.2
A3	12	1.0	396	368	7.4	0.101	0.75	4.9
A3	14	0.9	303	277	7.7	0.101	0.78	3.6
A3	16	1.2	354	318	10.4	0.101	1.05	3.0
B3	6	1.8	767	713	22.7	0.114	2.59	2.8
B3	8	1.4	793	751	12.7	0.114	1.44	5.2
B3	10	1.6	667	621	16.0	0.114	1.82	3.4
B3	12	2.9	621	537	14.9	0.114	1.69	3.2
B3	14	3.3	613	516	12.2	0.114	1.39	3.7
B3	16	3.2	600	508	15.9	0.114	1.82	2.8
M3	6	1.4	288	247	10.1	0.081	0.82	3.0
M3	8	1.1	290	257	9.8	0.081	0.79	3.2
M3	10	1.6	340	293	10.5	0.081	0.85	3.5
M3	12	2.0	429	369	9.4	0.081	0.76	4.9
M3	14	0.4	360	347	12.3	0.081	1.00	3.5
M3	16	1.6	380	332	11.2	0.081	0.90	3.7
						Moyenne		3.1
						Ecart-type		0.9
						n		30

Les volumes cellulaires moyens ont été tirés des moyennes obtenues dans l'enceinte (Tab. 3.4, chap.3, variations journalières). Les résultats sont présentés en Tab. 2.4.

Le rapport moyen carbone/volume bactérien de $3,1 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$ (limites de l'intervalle de confiance à $P = 0,05$: 2,8 à 3,5) se rapproche, là encore, des valeurs élevées proposées dans la littérature.

3. Conclusion

Les résultats obtenus sur les cultures d'eau de lagune se rapprochent de ceux obtenus très indirectement avec l'approche *in situ*. Même si cette étude ne peut être considérée comme exhaustive, les deux approches suggèrent un rapport moyen carbone/volume bactérien sensiblement plus élevé que ceux reportés initialement (0,86 et $1,21 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$; voir plus haut). Les valeurs déterminées ici se rapprochent de la relation proposée par Simon & Azam (1989) (cf. Fig. 2.5). Celle-ci permet d'estimer le rapport Carbone/Volume à $2 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$, lorsque le volume cellulaire moyen est de $0,100 \mu\text{m}^3$, valeur obtenue généralement en lagune Ebrié (entre 0,09 et 0,12, voir Tab.3.4, chap.3, variations journalières). C'est la valeur qui a été retenue pour la suite de ce travail.

**B - PRODUCTION DE BIOMASSE BACTERIENNE
DETERMINEE PAR L'INCORPORATION DE THYMIDINE**

I. INTRODUCTION

1. Principe

2. Critères d'applicabilité de la méthode

- a. Spécificité
- b. Universalité
- c. Conversion indépendante du taux de croissance
- d. Non perturbation de la croissance dans les conditions de mesure
- e. L'étape limitant l'incorporation est la synthèse de l'ADN
- f. L'activité spécifique de la Tdr est inchangée au niveau de la synthèse de l'ADN
- g. L'essentiel du marquage des macromolécules est retrouvé dans l'ADN

3. Conclusion

II. METHODOLOGIE EMPLOYEE

1. Incorporation dans les macromolécules

- a. Protocole standard
- b. Activité de la fraction fixée
- c. Saturation
- d. Linéarité
- e. Dilution isotopique

2. Nature des macromolécules marquées - extraction de l'ADN

- a. Introduction
- b. Matériel et méthodes
 - b1. Incubations
 - b2. Précipité TCA
 - b3. Digestion enzymatique
 - b4. Extraction au phénol-chloroforme
 - b5. Hydrolyse acide-base
- c. Résultats et discussion
 - c1. Précipité TCA
 - c2. Digestion enzymatique
 - c3. Extraction au phénol-chloroforme
 - c4. Hydrolyse acide-base
 - c5. Comparaison des 3 méthodes
 - a. Insuffisance de l'extraction par le phénol-chloroforme
 - b. Hydrolyse non-spécifique par NaOH
 - c. Insuffisance des méthodes d'extraction des protéines
 - c6. Fraction soluble dans l'éthanol
 - c7. Comparaisons des méthodes dans d'autres milieux
 - c8. Validité de la mesure
 - c9. Application en lagune
 - c10. Effet de la concentration en Tdr sur la répartition du marquage
- d. Conclusions
 - d1. Choix d'une méthode d'extraction de l'ADN
 - d2. Impossibilité de décrire la répartition complète du marquage
 - d3. Proportion du marquage dans l'ADN en lagune Ebré

III. CONVERSION DE L'INCORPORATION DE THYMIDINE EN PRODUCTION DE BIOMASSE BACTERIENNE

1. Introduction

- a. Le calcul théorique
- b. Détermination empirique dans un système de calibration
- c. Validation par une méthode indépendante

2. Approches utilisées en lagune Ebrlé

- a. Détermination empirique
 - a1. Méthodologie
 - a2. Résultats
 - a2.1. Production de biomasse et incorporation dans le TCA précipité
 - a2.2. Proportion du marquage dans l'ADN au cours des étalonnages
 - a3. Discussion
 - a4. Conclusion

- b. Validation du facteur de conversion par la consommation d'oxygène
 - b1. Introduction
 - b2. Postulats
 - b3. Résultats - discussion
 - b3.1 Analyse statistique
 - b3.2 Respiration phytoplanctonique
 - b3.3 Respiration bactérienne validation du facteur de conversion
 - b3.4 Biais créés par l'activité du nanoplancton hétérotrophe
 - b4. Conclusion

IV. CONCLUSION

I. INTRODUCTION

La mesure de la production de biomasse bactérienne a suscité de nombreuses recherches. Sans entreprendre une revue critique des méthodes développées (voir par exemple Cho & Azam, 1988) signalons que les seules méthodes sur lesquelles règne un certain consensus sont : La mesure de la fréquence des cellules en division (FDC ; Hagstrom *et al.* 1979), la détermination du taux de synthèse de l'ADN bactérien (thymidine ; Fuhrman & Azam, 1980) et des protéines (leucine ; Kirchman *et al.* 1985).

Une observation microscopique rapide montre que la méthode FDC est inadéquate en lagune. D'une part, les volumes bactériens s'étendent sur un large spectre, une cellule en division de volume élevé doit avoir ainsi une importance proportionnellement plus importante qu'une cellule en division de plus petite taille. Sans dispositif d'analyse automatique d'image, il n'est pas réaliste d'envisager la détermination du pourcentage de cellules en division dans chaque classe de taille bactérienne avec une précision raisonnable. D'autre part, une proportion notable des cellules sont fixées sur des particules ou agglomérées en agrégats cellulaires. Cet attachement peut entraîner une forte surestimation de la production bactérienne (Fallon & Boylen, 1990 et réf. citées).

La mesure de la synthèse protéique par incorporation de ³H-leucine présente deux inconvénients : la dilution isotopique n'est jamais négligeable (leucine extra et intracellulaire) et doit donc être systématiquement déterminée. De plus, sa spécificité pour les bactéries n'est pas établie de manière certaine et doit donc être vérifiée dans les milieux abordés. Ces inconvénients ne lui permettent pas de remplacer l'incorporation de thymidine qui reste la méthode la plus employée actuellement (Bjornsen & Kuparinen, 1991). Elle présente toutefois un intérêt certain dans les couches océaniques profondes, sans phytoplancton (Simon & Azam, 1989) et d'une manière générale dans toutes les situations où seules les bactéries sont susceptibles de l'incorporer (cultures bactériennes, Riemann *et al.* 1990 ; eaux souterraines ...) car sa sensibilité est plus élevée que celle de la thymidine (activités spécifiques disponibles plus élevées). Au cours de cette étude la production bactérienne de biomasse a été déterminée par l'incorporation de thymidine.

1. Principe

La vitesse d'incorporation de thymidine dans l'ADN donne une estimation de son taux de synthèse, donc de la productivité d'un peuplement bactérien lorsque l'on connaît la teneur en ADN du peuplement étudié. Cette incorporation dans l'ADN nécessite la présence, chez les organismes étudiés, d'un mécanisme d'uptake et d'une enzyme, la thymidine kinase, catalysant la synthèse de dTMP (*deoxy-Thymidine Monophosphate*) à partir de la thymidine ("salvage pathway"). La synthèse *de novo*, voie normale de la production de thymidine dans la cellule, est inhibée à partir d'un certain niveau de dTTP (*deoxy-Thymidine Triphosphate*) intracellulaire. Le degré de participation de la thymidine marquée exogène à la synthèse d'ADN est alors maximal (Fig. 2.8).

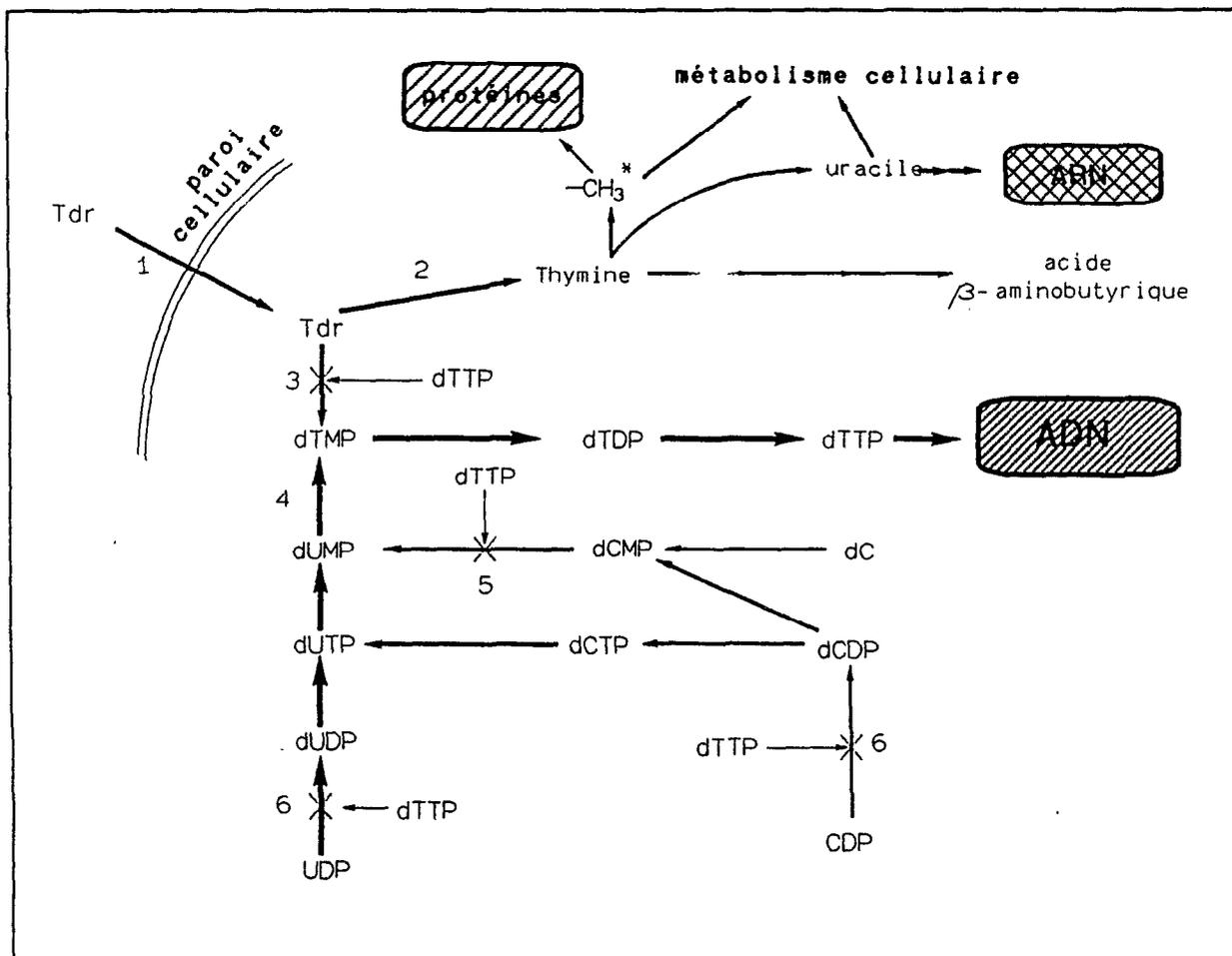


Figure 2.8 : Incorporation de la thymidine dans le métabolisme cellulaire. D'après Moriarty (1986). Tdr, Thymidine ; dTMP, dTDP, et dTTP, thymidine mono-, di- et triphosphate ; dUMP, dUDP et dUTP, déoxyuridine mono-, di- et triphosphate ; dCMP, dCDP, dCTP, déoxycytidine mono-, di- et triphosphate ; dC, déoxycytidine. Enzymes : (1) mécanisme de transport actif ; (2) thymidine phosphorylase ; (3) thymidine kinase ; (4) thymidilate synthétase ; (5) déoxycytidilate déaminase ; (6) ribonucléoside réductase. Les croix montrent les sites de rétro-inhibition par la dTTP. Le "salvage pathway" et les voies de dégradation sont indiqués par les flèches fines. La synthèse *de novo* est indiquée par des flèches plus épaisses.

La mesure de l'incorporation de [*methyl-³H]thymidine a été introduite dans le domaine de l'écologie microbienne aquatique par Brock (1967, 1971) dans le milieu marin, puis Tobin & Anthony (1978) dans les sédiments lacustres. Par la suite, Fuhrman & Azam (1980) dans le milieu marin et Moriarty & Pollard (1981) dans les sédiments ont développé cette approche en définissant les bases de la mesure et ses limites. Cette méthode a connu un vif succès, par sa simplicité d'emploi et sa sensibilité, et a été depuis largement employée, testée et critiquée à l'occasion de son application dans divers écosystèmes aquatiques. Cette technique ne peut pourtant être appliquée sans tenir compte de ses limites.*

2. Critères d'applicabilité de la méthode

La détermination de la productivité bactérienne par la mesure de la vitesse de synthèse de l'ADN au moyen de l'incorporation de thymidine semble répondre de manière satisfaisante à quatre critères définis par Azam & Fuhrman (1984) :

- La mesure est spécifique des bactéries.
- L'incorporation par les bactéries hétérotrophes aérobies en croissance est universelle.
- La conversion en production de biomasse est indépendante du taux de croissance.
- La mesure est assez sensible pour permettre de courtes incubations et ne modifie pas le taux de croissance moyen de la communauté bactérienne.

a. Spécificité

Elle dépend de la concentration employée et de la durée d'incubation avec le traceur. Dans les conditions usuelles d'utilisation (2 - 20 nM pendant quelques dizaines de minutes), celle-ci paraît bien établie. Cette spécificité a été vérifiée par autoradiographie dans divers milieux (Fuhrman & Azam, 1980 ; Bern, 1985 et Douglas *et al.* 1987). Elle a également été vérifiée sur des cultures axéniques d'algues eucaryotes (Bell *et al.* 1983 ; Findlay *et al.* 1984), de cyanobactéries (Bell *et al.* 1983 ; Findlay *et al.* 1984 ; Robarts & Wicks, 1989) et de champignons (Findlay *et al.* 1984). Enfin, l'absence de thymidine kinase a été démontrée chez de nombreuses espèces d'algues eucaryotes (Moriarty 1984), de champignons (Grivell & Jackson, 1968), et de cyanobactéries (Glaser *et al.* 1973).

b. Universalité

Il semble que l'incorporation de thymidine dans l'ADN soit assez universelle chez les bactéries hétérotrophes aérobies en croissance. Les premières comparaisons effectuées en autoradiographie ont montré que les bactéries incorporant des amino-acides incorporaient également la thymidine (Fuhrman & Azam, 1980, Tabor & Neihof, 1982). Depuis, toutefois, Douglas *et al.* 1987 ont dénombré moins de bactéries incorporant la thymidine que le glutamate (sans cependant pouvoir exclure la possibilité d'une croissance non balancée) et Pedros-Alio & Newell (1989) ont dénombré au plus 57% de bactéries incorporant la thymidine dans un assemblage bactérien en croissance exponentielle. Enfin, certaines souches pures de *Flavobacterium*, *Vibrio* et *Pseudomonas* se sont révélées

incapables d'incorporer la thymidine exogène (Davis, 1989). En milieu oligotrophe cette universalité est plus douteuse (Ducklow & Hill, 1985 ; Moriarty, 1986).

Chez les bactéries hétérotrophes anaérobies strictes notamment les bactéries sulfato-réductrices la thymidine ne semble pas incorporée au niveau de l'ADN (Moriarty & Pollard, 1981 ; Wellsbury *et al.* 1990). Toutefois, Mc Donough *et al.* (1986) et Bloem *et al.* (1989), ont mis en évidence dans l'hypolimnion anoxique d'un lac, une activité d'incorporation de thymidine inhibée par l'oxygène.

Enfin, la thymidine ne semble pas incorporée par les bactéries chemolithotrophes (Johnstone & Jones, 1989).

c. Conversion indépendante du taux de croissance

La conversion des valeurs d'incorporation en production de biomasse a suscité de nombreux travaux. Elle semble d'avantage dépendre du protocole employé et de l'assemblage bactérien étudié, avec ses caractéristiques nutritives, que du taux de croissance lorsque les paramètres précédents sont identiques (voir chap.2, étalonnages). C'est probablement la plus grande faiblesse de la méthode.

d. Non perturbation de la croissance dans les conditions de mesure

Les fortes activités spécifiques de la thymidine tritiée disponibles permettent des durées incubation courtes vis-à-vis du temps de génération bactérien et minimisent ainsi les perturbations dues au confinement. Ces durées d'incubation limitées permettent également de supprimer l'éventualité du turn-over de l'ADN (réparation ou dégradation résultant de la prédation sur les bactéries). La perturbation du taux de croissance par l'apport de quelques nmoles par litre de thymidine est peu probable, bien que non établie avec certitude en milieu oligotrophe.

Ces critères, supposant que l'incorporation de la thymidine tritiée dans les macromolécules (précipitées par l'acide Trichloro-acétique ou TCA) est une mesure fiable de la synthèse de l'ADN bactérien, découlent donc implicitement de 3 postulats :

e. L'étape limitant l'incorporation est la synthèse de l'ADN

Avant de participer à la synthèse de l'ADN, la thymidine exogène doit être incorporée dans la cellule puis phosphorylée en dTTP (Fig. 2.8). La vitesse d'incorporation de la thymidine dans l'ADN ne reflète le taux de synthèse de l'ADN que si cette dernière étape est limitante. Cela semble être généralement le cas pour les bactéries hétérotrophes aérobies (Moriarty, 1986).

f. L'activité spécifique de la thymidine est inchangée au niveau de la synthèse de l'ADN

L'activité spécifique de la thymidine ne peut être directement déterminée au niveau de la synthèse de l'ADN car les nucléotides sont fonctionnellement séparés au niveau du complexe ADN-polymérase (Moriarty, 1986). Elle peut être estimée par l'analyse de la dilution isotopique (Moriarty &

Pollard, 1981, 1982) si l'étape limitante est bien la synthèse de l'ADN. La source principale de cette dilution est la synthèse *de novo* de dTMP dans la cellule, la concentration naturelle dans les milieux pélagiques étant en général inférieure à 1 nM. En découplant dilution intra et extracellulaire au moyen de la FdUrd (Fluoro-*deoxy*-Uridine), Jeffrey & Paul (1988) l'ont confirmé d'une manière indépendante.

Sauf exception (Chrzanowski, 1988), le degré de participation (DP) de la thymidine exogène mesuré par l'étude de la dilution isotopique semble en général approcher 100% en milieu pélagique lorsqu'on emploie une concentration saturante du marqueur. (Bell, 1986 ; Moriarty, 1986 ; Jeffrey & Paul, 1988).

Il convient de noter que la détermination du degré de participation de la thymidine tritiée à la synthèse de l'ADN ne peut être déterminée par l'étude de la dilution isotopique que si cette étape est bien limitante. Cette approche surestime le degré de participation si une proportion significative de l'assemblage bactérien en croissance n'incorpore pas (ou peu) la thymidine exogène (uptake limitant par exemple). Ainsi, une faible proportion de bactéries incorporant la thymidine exogène pourrait expliquer la forte sous-estimation de la synthèse de l'ADN déterminée au moyen de l'incorporation de thymidine par Jeffrey & Paul (1988), même après correction du DP par la dilution isotopique.

g. L'essentiel du marquage des macromolécules est retrouvé dans l'ADN

La contribution de l'ADN au marquage total a été estimée initialement à 80% dans les eaux côtières de Californie (Fuhrman & Azam, 1980). De nombreux travaux ont, par la suite, montré que cette contribution pouvait être plus faible et varier d'un milieu à l'autre. Il est vraisemblable que cette proportion varie également suivant les méthodes d'extraction employées (voir chap.2, extraction de l'ADN).

3. Conclusion

La validité et l'interprétation des résultats obtenus avec cette méthode sont probablement plus problématiques que l'on ne le pensait initialement. Ainsi, un certain nombre de vérifications ou d'adaptations sont nécessaires lorsque l'on aborde un nouveau site d'étude. Dans la mesure du possible celles-ci ont été effectuées en lagune Ebrié. Elles sont développées dans les paragraphes suivants.

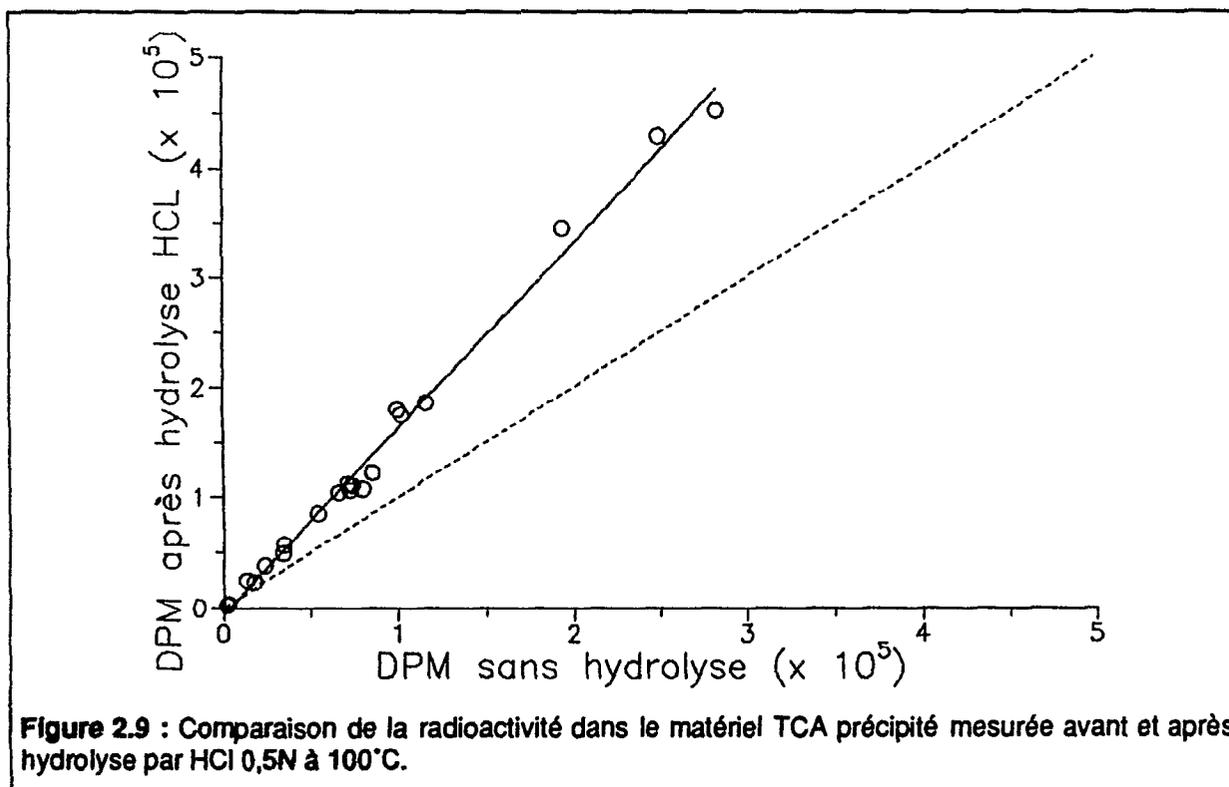
II. METHODOLOGIE EMPLOYEE

1. Incorporation dans les macromolécules

a. Protocole standard

Le protocole utilisé dans cette étude, inspiré de celui proposé par Fuhrman & Azam (1980), est le suivant :

Pour chaque mesure, deux échantillons d'eau du milieu (3 à 6 ml) sont incubés à température *in situ* (30°C dans la plupart des cas) et à l'obscurité en présence de 20 nmole l⁻¹ de [methyl-³H]thymidine (CEA, 45-50 Ci mmole⁻¹). Les incubations sont arrêtées en ajoutant une quantité suffisante de TCA 30% froid (5% concentration finale). Pour chaque mesure un témoin est réalisé en ajoutant le TCA immédiatement après la thymidine (témoin t₀). Après précipitation (10-20 min à 2°C) en présence de thymidine non marquée (40 µM concentration finale) le précipité est collecté sur une membrane en nitrate ou acétate de cellulose de porosité 0,2 µm imbibée au préalable de thymidine non marquée (10 mM). Cette procédure réduit fortement les témoins. Le précipité retenu sur le filtre après trois rinçages successifs par 5ml de TCA 5% froid est alors déposé dans une fiole à scintillation. Il reçoit 0.5 ml d'HCl 0.5N et est laissé à 95-100°C pendant 30 minutes. L'hydrolyse des acides nucléiques permet de minimiser l'autoabsorption de la radioactivité du tritium et se traduit par un gain de 70% des dpm (fig. 2.9).



Le filtre est ensuite dissous dans 1 ml d'acétate d'éthyle et le mélange scintillant est ajouté. Après une nuit à l'obscurité pour éliminer la chimio-luminescence, la radioactivité est alors déterminée en scintillation liquide, l'efficacité de comptage est déterminée par étalonnage externe.

L'activité d'incorporation dans le TCA précipité est estimée par le calcul suivant :

$$\text{THYM} = (\text{dpm}/\text{AS}/2.22 \cdot 10^6) \times (1000/\text{V}) \times (60/\text{t})$$

Avec : THYM, activité d'incorporation en nmole l⁻¹ h⁻¹ ; AS activité du traceur en Ci mole⁻¹ 2.22 10⁶ dpm/Ci ; V, volume incubé en ml et t, durée d'incubation en minutes.

b. Activité de la fraction fixée

Lorsque l'activité sur particule est déterminée, l'incubation (échantillon de 6 ml + 0,2ml de solution de thymidine) est arrêtée en ajoutant 0,3 ml de Formol 40% (tamponné au borate de sodium) et 0,3 ml de thymidine 10 mM non marquée (50 µM finale). Les activités obtenues ne sont pas différentes de celles déterminées après arrêt au TCA. Une partie de l'échantillon (3 ml) est alors tamisée (dépression < 5 cm de Hg) sur membrane en polycarbonate de porosité 3 µm (Nuclepore). L'échantillon n'est pas rincé, pour respecter le protocole suivi pour les dénombrements cellulaires (voir chap.2, biomasse). La différence avec un échantillon rincé est négligeable. Les échantillons bruts et tamisés sont alors précipités comme décrit plus haut. La suite du protocole est identique. L'activité est déterminée dans chaque fraction en corrigeant les volumes.

Soit pour la fraction tamisée : $V_t = 3 \times 6 / (6 + 0,2 + 0,3 + 0,3) = 2,57$ ml

Et pour la fraction brute : $V_b = 3,6 \times 6 / (6 + 0,2 + 0,3 + 0,3) = 3,43$ ml

c. Saturation

Des expériences de saturation de l'incorporation ont été régulièrement réalisées en utilisant des concentrations de thymidine tritiée allant de 2 à 30 nM. La saturation était systématiquement vérifiée à 20 nM.

d. Linéarité

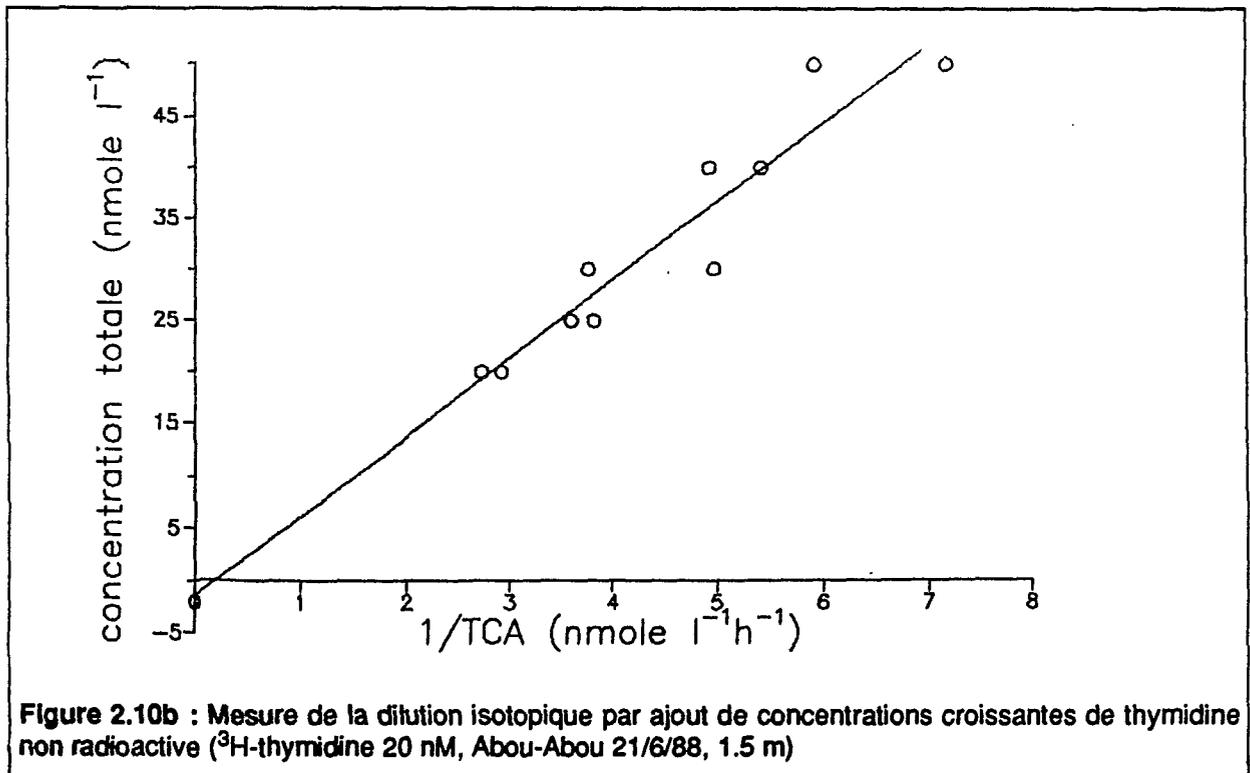
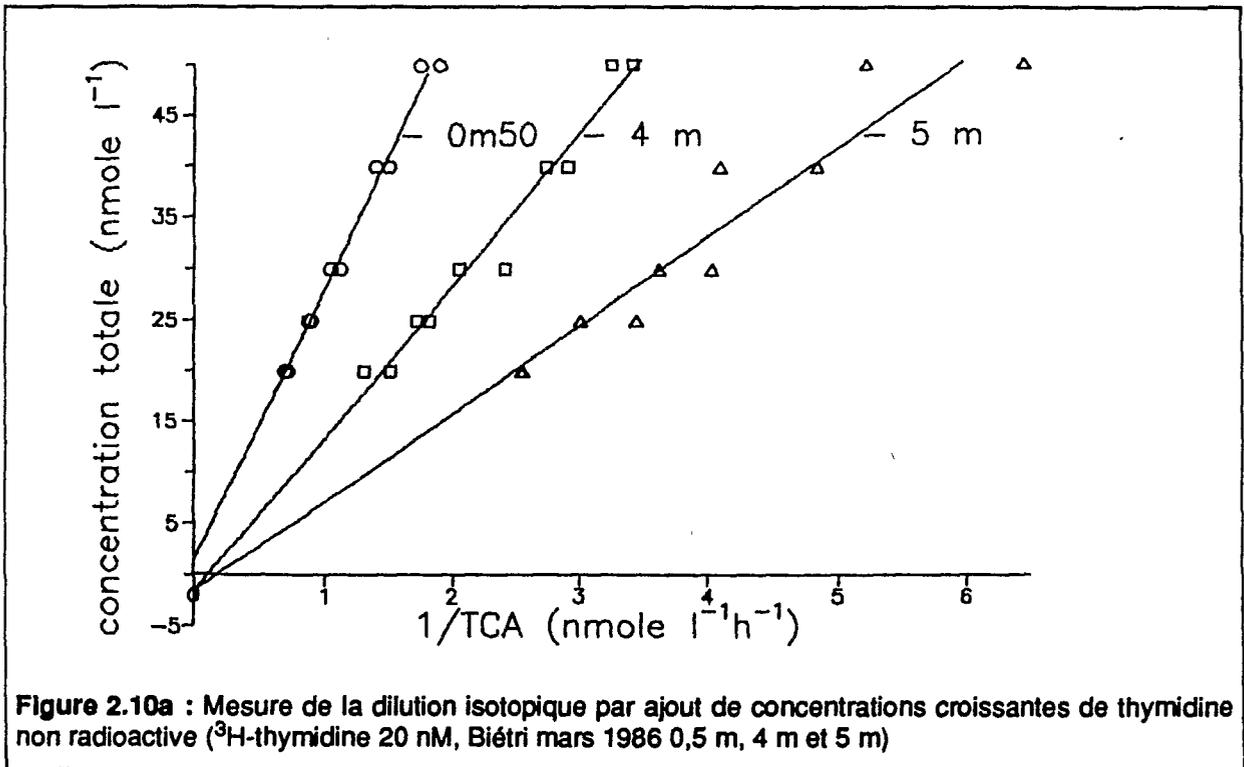
Les incorporations sont en général linéaires plus d'une heure. La durée d'incubation couramment employée est de 20 minutes.

e. Dilution isotopique

La dilution isotopique, estimée selon l'approche de Moriarty et Pollard (1981), a été vérifiée occasionnellement avec des résultats toujours proche de zéro dans le TCA précipité (fig. 2.10). Le degré de participation de la thymidine exogène à la synthèse de l'ADN semble donc maximum à 20 nM en lagune Ebrié.

La proportion du marquage dans l'ADN a été déterminée plus récemment, elle fait l'objet du paragraphe suivant.

La conversion des valeurs d'incorporation en production de biomasse bactérienne a été déterminée à l'aide d'étalonnages empiriques et est discutée au paragraphe C.



2. Nature des macromolécules marquées - extraction de l'ADN ¹

a. Introduction

Des travaux récents montrent que le marquage préférentiel de l'ADN par la [*methyl-³H*]thymidine n'est pas vérifié dans certains écosystèmes (Riemann *et al.* 1982 ; Mc Donough *et al.* 1986 ; Robarts *et al.* 1986). De plus le rapport du marquage dans l'ADN au marquage du TCA précipité semble être très variable pour un même écosystème (Lovell & Konopka, 1985 ; Robarts *et al.* 1986 ; Mc Donough *et al.* 1986 ; Moriarty, 1986 ; Smits & Riemann, 1988).

L'intérêt d'employer le marquage sur le méthyl de la thymidine est de perdre celui-ci lors de la transformation Tdr → Thymine → Uracile. En constatant une plus forte spécificité du marquage obtenu avec la [*6-³H*]thymidine qu'avec la [*methyl-³H*]thymidine, Hollibaugh (1988) a conclu que l'origine du marquage non spécifique était principalement due à la déméthylation du dTMP en dUMP (voie inverse de celle réalisée par la thymidilate synthétase, fig. 2.8). Toutefois, Jeffrey & Paul (1988), en constatant l'inefficacité de la triméthoprine et de l'aminoptérine (inhibant la régénération du tetrahydrofolate donc l'étape dTMP → dUMP) à prévenir le marquage non spécifique, suggèrent que le catabolisme de la ³H-Tdr s'effectue principalement par la thymidine phosphorylase (fig. 2.8).

La nature controversée des voies par lesquelles le tritium aboutit hors de la molécule cible ne permet pas d'envisager l'emploi d'inhibiteurs ou de traceurs aboutissant à une meilleure spécificité pour l'instant. Il semble donc nécessaire d'extraire et de purifier spécifiquement l'ADN pour éviter ces biais. Parmi les méthodes décrites, trois sont plus fréquemment utilisées :

- l'hydrolyse acide-base (Fuhrman & Azam, 1982 ; Riemann & Sondergaard, 1984 ; Scavia *et al.* 1986 ; Paul *et al.* 1987 ; Hollibaugh, 1988),
- le fractionnement enzymatique (Riemann, 1984 ; Servais *et al.* 1987 ; Wicks & Robarts, 1987),
- l'extraction au phénol-chloroforme (Wicks et Robarts, 1987 ; Bell & Riemann, 1989).

Nous avons comparé ces trois méthodes, facilement applicables sur le terrain, afin de déterminer la meilleure procédure pour estimer la productivité du bactérioplancton de la lagune Ebrié. Les auteurs définissent généralement trois composants macromoléculaires pouvant être marqués par la [*methyl-³H*]thymidine : l'ADN, l'ARN et les protéines. Afin de comparer les spécificités apparentes de marquage de chacune de ces fractions, au moyen des trois méthodes, trois précurseurs tritiés ont été employés : la thymidine (Fuhrman & Azam, 1980, 1982), l'uridine (Karl, 1982 ; Witzel & Graf, 1984) et la L-leucine (Kirchman *et al.* 1985).

¹ Une partie de ces résultats est publiée dans :

Torréton & Bouvy (1991). Estimating bacterial DNA synthesis from ³H-thymidine incorporation : Discrepancies among macromolecular extraction procedures. *Limnol. Oceanogr.* 36(2):299-206

b. Matériel et méthodes

b1. Incubations

Les échantillons sont prélevés en baie de Biétri à 50 cm de profondeur et reçoivent l'un des trois traceurs suivants : [*methyl*-³H]thymidine (45 Ci/mmmole), [5, 6-³H]uridine (49 Ci/mmmole) et [4, 5-³H]L-leucine (60 Ci/mmmole) (CEA France). Toutes les incubations sont réalisées dans des erlenmeyers de 150 ml stériles, en lumière atténuée à 30°C avec une concentration finale 20 nM. Les incorporations sont arrêtées en plongeant les échantillons dans un bain cryostaté à 2°C. Les témoins t_0 sont réalisés en ajoutant également chaque traceur dans des échantillons d'eau du milieu maintenus à 2°C. Des sous-échantillons sont alors répartis dans une série de tubes en polystyrène stériles.

b2. Précipité TCA

La détermination des macromolécules est réalisée selon le protocole standard défini plus haut. La différence entre des duplicats est en moyenne de 6.4% (n=15).

b3. Digestion enzymatique

Deux protocoles de digestion enzymatique des macromolécules précipitées ont été testés avec la [*methyl*-³H]thymidine et trois enzymes (DNase I, grade I, 3000 unité Kunitz mg⁻¹ ; RNase A, 40 unités Kunitz g⁻¹ ; protéinase K, 20 unités mg⁻¹; Boehringer Mannheim GmbH). Le protocole développé par Servais *et al.* (1987) basé sur la sonication des cellules en présence de Triton X100 et l'incubation en phase liquide donne des résultats très proches de ceux obtenus en suivant le protocole de Robarts *et al.* (1986). Les digestions enzymatiques ont été par la suite effectuées à l'aide de cette dernière procédure permettant de conserver les précipités congelés sur des membranes et donc d'en différer le traitement.

Les filtres retenant le précipité TCA sont rincés trois fois avec 3 ml de KHCO₃ 10 mM pour retirer l'excès d'acidité. Ce rinçage retire moins de 5% de la radioactivité totale. Les filtres sont alors placés dans des fioles à scintillation et stockés à -20°C jusqu'à l'hydrolyse. Le stockage jusqu'à une semaine n'affecte pas la répartition finale du tritium. Les digestions enzymatiques sont alors réalisées dans les fioles contenant les filtres, par ajout de 2.5 ml de l'une des solutions enzymatiques suivantes :

<u>DNase</u>	<u>RNase</u>	<u>Protéinase</u>
MOPS pH 7.5	MOPS pH 7.5	Tris pH 8
Enzyme 80 mg l ⁻¹	Enzyme 80 mg l ⁻¹	Enzyme 80 mg l ⁻¹
MgCl ₂ 5 mM		
CaCl ₂ 0.5 mM		

Chaque extraction enzymatique est faite en duplicat. Pour chaque extraction un blanc de rinçage est effectué (en duplicat) en omettant l'enzyme correspondant. Après une heure d'incubation à 37°C sur un agitateur rotatif (200 rpm) les solutions d'incubation sont filtrées sur des membranes en acétate de cellulose (Millipore GS, 0.22 µm). La radioactivité du filtrat est alors déterminée. La

radioactivité des blancs de rinçage, plus faible et plus reproductible avec cette procédure, est soustraite du signal obtenu avec l'enzyme correspondant. La radioactivité extraite des blancs de rinçage et des solutions enzymatiques est identique pour les blancs t_0 . Pour les expériences avec l'uridine, le blanc de rinçage est réalisé en portant la solution de DNase pendant 30 minutes à 100°C pour en éliminer l'activité. L'activité enzymatique résiduelle est alors attribuée à la RNase contaminante et est soustraite de l'activité du signal. La différence entre les réplicats est en moyenne de 7.6% (n=30).

b4. Extraction au phénol-chloroforme

Cette extraction est réalisée selon le protocole développé par Wicks & Roberts (1987). Les échantillons de 5 ml stockés 15 minutes à 2°C sont hydrolysés en présence de NaOH (0.5N concentration finale) pendant 15 minutes à 30°C puis acidifiés avec 1.4 ml de TCA 100% pendant 15 minutes. Le précipité est alors collecté sur membrane en nitrate de cellulose (Whatman, 0.2 μ m), rincé trois fois avec 3 ml de phénol-chloroforme (50% poids/vol.) pour extraire les protéines puis deux fois avec 5 ml d'éthanol froid (80% v/v). La radioactivité retenue sur les membranes est alors déterminée comme décrit plus haut. La radioactivité du blanc t_0 déterminée de la même manière est retirée du signal. La différence entre les réplicats est en moyenne de 7.1% (n=12).

b5. Hydrolyse acide-base

L'hydrolyse acide-base est réalisée selon la procédure de Fuhrman & Azam (1982) modifiée par Riemann & Sondergaard (1984) pour les environnements saumâtres. Une paire d'échantillons reçoit du TCA (5% final, 2°C) afin de précipiter les macromolécules (ADN + ARN + protéines ; fraction TCA froid). Un second duplicat reçoit de la soude (NaOH 1N concentration finale) et est maintenu pendant 1 h à 60°C pour hydrolyser les acides ribonucléiques. Il est ensuite acidifié avec du TCA 100% froid (1.4 ml pour 5 ml d'échantillon) et laissé 15 minutes à 2°C pour précipiter les macromolécules non hydrolysées (ADN + protéines ; fraction NaOH). Un troisième duplicat est maintenu 30 minutes à 95°C avec du TCA 20% (concentration finale) afin d'hydrolyser les acides nucléiques et ne conserver que la fraction protéique (fraction TCA chaud).

Tous les précipités sont collectés sur membrane en nitrate de cellulose (Whatman, 0.2 μ m), la radioactivité retenue est déterminée comme décrit plus haut. Le témoin T0 est traité de manière identique et la radioactivité est soustraite des fractions correspondantes. La différence entre les réplicats est en moyenne respectivement de 4.3% et 9.9% (n=7), après les hydrolyses NaOH et TCA.

La radioactivité dans les trois fractions est calculée de la manière suivante :

$$\text{dpm ADN} = \text{dpm NaOH} - \text{dpm TCA chaud}$$

$$\text{dpm ARN} = \text{dpm TCA froid} - \text{dpm NaOH}$$

$$\text{dpm protéines} = \text{dpm TCA chaud}$$

c. Résultats et discussion

c1. Précipité TCA

Sur la série d'expériences réalisées en baie de Biétri, les valeurs d'incorporation de thymidine, uridine et leucine dans le TCA précipité sont en moyenne de 2.14 nmol l⁻¹ h⁻¹ (n=5), 5.46 nmol l⁻¹ h⁻¹ (n=3) et 5.10 (n=3) nmol l⁻¹ h⁻¹.

Tous les résultats des expériences de fractionnement ont été exprimés en pourcentage de l'incorporation dans le TCA précipité. Le tableau 2.5 illustre un exemple de la répartition dans les trois fractions du marquage obtenu avec les trois traceurs selon les trois procédures.

Tableau 2.5 : Répartition du marquage dans les différentes fractions après l'incorporation de ³H thymidine, leucine et uridine (baie de Biétri, 20/12/89). Les fractions sont définies dans le texte et sont exprimées en pourcentage de la radioactivité du précipité TCA 5%. NE : non expliqué.

a) Fractionnement enzymatique

	5% TCA	ADN	ARN	Protéines	NE
Thymidine	100	18.6	-0.7	38.6	43
Uridine	100	13.6	82.6	10.1	-
Leucine	100	0.8	0.0	78.0	21

b) Extraction au phénol-chloroforme

	5% TCA	ADN	ARN	Protéines	Lipides
Thymidine	100	36.1	13.8	46.0	4.1
Uridine	100	13.1	74.0	8.4	4.5
Leucine	100	55.5	0.0	38.7	5.8

c) Hydrolyse acide-base

	5%TCA	ADN	ARN	Protéines
Thymidine	100	15.5	21.0	63.3
Uridine	100	7.5	85.8	6.7
Leucine	100	20.8	29.8	49.4

c2. Digestion enzymatique

Après l'incorporation de thymidine, la digestion enzymatique du précipité TCA montre ; (1) qu'une faible part du marquage (16.7 à 18.6%, n=3) apparaît dans l'ADN, (2) que l'ARN n'est pas marqué et (3) qu'une fraction importante du marquage total est retrouvée dans la fraction protéique (14.0 à 38.6%, n=3). Par contre, une fraction importante 43.6 à 68.8% (moyenne 57.7%, n=3) n'est hydrolysable par aucun des trois enzymes et n'est donc pas expliquée (Tableau 2.5). Cette part inexpliquée est en partie due aux contrôles de rinçage dans chaque fraction (moyenne 3.1%, n=9) et au rinçage initial au KHCO_3 (moyenne 2.9%, n=3). Seule la partie restante, (moyenne 45.4%, n=3) est donc à attribuer à une hydrolyse insuffisante par les enzymes employées ou à une autre fraction cellulaire marquée (voir plus loin).

Trois expériences de digestion enzymatique montrent que l'essentiel du marquage (^3H) uridine est retrouvé au niveau de l'ARN (62.9 to 90.7%, n=3, 82.6% dans le Tableau 2.5).

Enfin le marquage provenant de la (^3H) leucine apparaît essentiellement dans la fraction protéique (47.0 et 78.1%, n=2).

Selon la procédure enzymatique, la leucine et l'uridine semblent avoir une meilleure spécificité de marquage que la thymidine vis à vis de leur molécule cible.

c3. Extraction au phénol-chloroforme

Après incorporation de thymidine la radioactivité totale dans les macromolécules (TCA précipité) est similaire avec ou sans le traitement alcalin préconisé par Wicks et Roberts (1987). Une large fraction du marquage est solubilisée par le mélange phénol-chloroforme (33.0 to 58.5%, moyenne 44.3%, n=4 - tableau 2.5). Le rinçage du filtre à l'éthanol solubilise entre 4.0 et 14.9 % du marquage total (moyenne 8.4 %, n=4). La fraction résiduelle, définie par Wicks & Roberts (1987) comme étant de l'ADN représente 29.8 à 49.2% du marquage total dans le TCA précipité (moyenne 41.1, n= 4).

Deux expériences montrent que le traitement alcalin initial retire 74 et 78.5% du marquage par l'uridine, suggérant une hydrolyse importante de l'ARN marqué avec cette procédure. Le phénol-chloroforme solubilise 8.4 et 11.4% et l'éthanol 4.5 et 0.5% du marquage total. Finalement le marquage résiduel "ADN" représente 13.1 et 9.6% du marquage initial.

Trois expériences de marquage à la leucine tritiée montrent que la radioactivité dans le TCA précipité froid n'est pas différente avec ou sans le traitement alcalin initial. Le mélange phénol-chloroforme ne retire que 16.3 à 41.1% (38.7% dans l'exemple du tableau 2.5) du marquage total. Après l'extraction à l'éthanol, retirant 3.3 à 11.6% du marquage (5.8% au tableau 2.5), une proportion étonnamment élevée (55.4 à 60.5%, 55.5% au tableau 2.5) reste dans la fraction "ADN".

c4. Hydrolyse acide-base

Comme dans beaucoup d'autres études utilisant cette procédure (Karl, 1982 ; Lovell & Konopka, 1985 ; Riemann *et al.* 1982), une proportion significative du marquage [³H-*methy*]thymidine (21.2 à 56.6%, n=3) est retrouvée dans la fraction ARN (hydrolysée par 1N NaOH à 60°C). Cependant, la plus grande part du marquage réside au niveau de la fraction protéique (38.1 à 63.3%, n=3) et la plus faible dans l'ADN (5.8 à 15.5%, n=3).

Deux expériences montrent que la radioactivité provenant de l'uridine tritiée prédomine largement dans la fraction ARN (84.9 et 85.8%), le reste étant également réparti dans les fractions ADN et protéines.

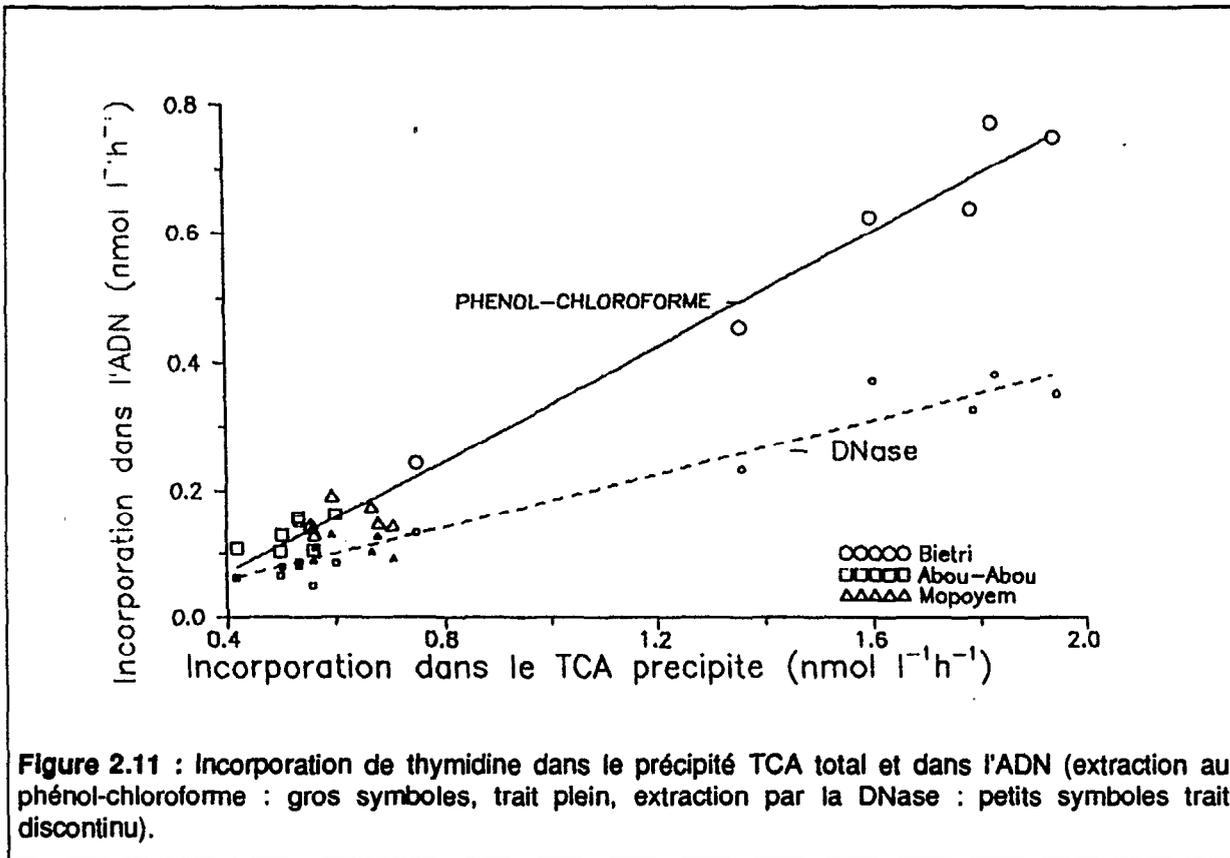
Enfin, la plus grande part du marquage issu de la leucine est retrouvée dans les protéines (49.4 et 62.9%, n=2). La fraction ARN représente 29.8 et 22.4% et l'ADN contribue pour 20.8 et 14.7% au marquage total.

c5. Comparaison des trois méthodes

Dans l'écosystème étudié, les trois méthodes utilisées donnent des résultats contradictoires. La proportion d'ADN marqué varie avec la technique de fractionnement utilisée. Des expériences supplémentaires ont permis de préciser l'origine de certaines divergences.

a. Insuffisance de l'extraction par le phénol-chloroforme

Le précipité final obtenu après extraction au phénol-chloroforme soumis à une digestion enzymatique a montré qu'une part importante du marquage issu de la thymidine tritiée était hydrolysable par la protéinase K (10.7%, tableau 2.6). Le traitement de ce même précipité par la DNase montre par ailleurs que l'on hydrolyse la même quantité du précipité marqué avec ou sans traitement préalable au phénol-chloroforme (18.9 comparé à 18.6%, Tableaux 2.5 et 2.6). Ces résultats suggèrent que le traitement au phénol-chloroforme n'altère pas l'ADN (en accord avec Roberts *et al.* 1986), mais qu'il n'extrait pas non plus toutes les protéines marquées. Plusieurs qualités de phénol ont été testées sans amélioration notable de l'extraction. L'augmentation du nombre de rinçages est également restée sans effet. Des comparaisons effectuées en divers sites de la lagune ont montré une différence systématique entre extraction au phénol chloroforme et à la DNase (fig. 2.11).



Cette faible efficacité d'extraction de la fraction protéique est en accord avec la faible proportion du marquage issu de la leucine extraite par le mélange phénol-chloroforme (moyenne 32%, n=3, 38.7% cf tableau 2.5). Les procédures enzymatique et acido-basique indiquent un plus fort marquage des protéines par la leucine (moyennes respectives 62.6, n=2 et 56.2%, n=2). De plus, environ 50% du marquage à la leucine résistant à l'extraction phénol-chloroforme est encore hydrolysable par la protéinase K (tableau 2.6).

Tableau 2.6 : Fractionnement enzymatique de l'ADN obtenu avec l'extraction au phénol-chloroforme (Baie de Biétri, 20/12/89). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'incorporation dans le TCA précipité. NE : non expliqué

Fraction	5%TCA	"ADN" (phénol-chlo.)	Extraction enzymatique			
			ADN	ARN	Protéines	NE
Thymidine	100	36.1	18.9	0.0	10.7	6.5
Leucine	100	55.5	0.0	nd	25.7	29.8

b. Hydrolyse non-spécifique par NaOH

Les fractions ADN déterminées d'après l'hydrolyse acide-base et l'hydrolyse par la DNase sont également systématiquement différentes (Tableau 2.5). Certaines sources d'erreur ont pu être précisées de la manière suivante.

Selon la méthode enzymatique, le marquage provenant de la [*methyl*-³H] thymidine n'est pas incorporé dans l'ARN, alors que la procédure acide-base suggère une incorporation significative au niveau de cette fraction. La RNase hydrolyse pourtant l'essentiel du marquage provenant de l'uridine (83%) montrant que le marquage de l'ARN par la [*methyl*-³H] thymidine aurait été retrouvé s'il avait été présent.

Il semble donc que, dans nos conditions d'expérimentation, la [*methyl*-³H] thymidine n'est pas incorporée dans l'ARN et que le marquage apparent de l'ARN déterminé par l'hydrolyse acide-base est dû à un artefact de cette procédure. Ce résultat est en accord avec les observations de Riemann (1984), Moriarty (1986), Roberts *et al.* (1986) et Coveney & Wetzel (1988) qui observent un marquage insignifiant de l'ARN lorsque de courtes durées d'incubation sont employées. Ce biais pourrait expliquer les pourcentages négatifs du marquage dans l'ADN reportés par Hollibaugh (1988) en présence de mitomycine C, inhibiteur de la synthèse d'ADN. A l'opposé, Servais *et al.* (1987), utilisant une procédure enzymatique, et Brittain & Karl (1990), employant une procédure acide-base très rigoureuse (mais des durées d'incubation très longues), ont montré un marquage conséquent de l'ARN par la [*methyl*-³H] thymidine.

La nature du matériel cellulaire extrait par la soude 1N n'est pas élucidée. La procédure acide-base indique également qu'une part du marquage leucine apparaît dans cette fraction, alors que la procédure enzymatique indique que le marquage leucine ne se retrouve pas dans les acides nucléiques. La digestion par la DNase à différentes étapes de la procédure acide-base a révélé que l'ADN marqué par la thymidine, représentant initialement 17.9% du marquage dans le précipité TCA, n'était plus que de 7.7% après l'hydrolyse basique (tableau 2.7). Donc une part de l'ADN est vraisemblablement hydrolysée par ce traitement. Cette observation est en accord avec le faible recouvrement de ³²P-ADN (68%) reporté par Roberts *et al.* (1986) après traitement par la soude 1N à 60°C.

Tableau 2.7 : Estimation de l'ADN marqué par la (³H) thymidine (estimé par extraction enzymatique) dans les différentes fractions obtenues au cours de l'hydrolyse acide-base (Baie de Biétri 31/01/90).

TRAITEMENT	TCA 5% froid	NaOH 60°C	TCA 5% 100°C	TCA 20% 100°C
Précipité Total	100	52.0	49.0	35.3
ADN	17.9	7.7	3.5	0.0

c. Insuffisance des méthodes d'extraction des protéines

La proportion du marquage leucine apparaissant dans les protéines varie également selon la méthode utilisée. Le traitement par la Protéinase K révèle davantage de protéines marquées que les traitements par le TCA 20% ou l'extraction par le phénol-chloroforme ne le suggèrent (tableau 2.5). Au contraire, une part plus importante du marquage provenant de la [*methyl*-³H]thymidine apparaît dans les protéines avec la procédure acide-base (moyenne 46.3%, n=3) et l'extraction au phénol-chloroforme (moyenne 44.3%, n=4), qu'avec le traitement par la protéinase K (23.8%, n=3). Ces résultats ne sont pas nécessairement contradictoires dans la mesure où le marquage des protéines ne suit pas les mêmes voies métaboliques s'il provient de la thymidine ou de la leucine. Le traitement du précipité TCA 20% par la DNase montre que tout l'ADN semble avoir été hydrolysé (tableau 2.7). De plus, après l'incorporation d'uridine, une proportion très faible du marquage est retrouvée dans la fraction résistante au TCA 20% à chaud (7.5 et 5.7%, voir plus haut). Ces deux observations suggèrent que l'hydrolyse au TCA 20% à 95-100°C est efficace sur les acides nucléiques (ADN et ARN).

L'hydrolyse acide-base montre que 49.4 et 62.9% du marquage par la (³H) leucine dans le TCA précipité froid est présent dans les protéines, le reste étant réparti dans les fractions ADN et ARN (voir plus haut), or les digestions enzymatiques n'ont montré aucune trace du marquage (³H) leucine dans l'ADN ou l'ARN. Il semble donc que la fraction résistante à l'hydrolyse au TCA 20% sous-estime la fraction protéique marquée et donc ne peut être utilisée pour déterminer le marquage des acides nucléiques par différence.

Certains auteurs utilisent le TCA 5% afin de minimiser l'hydrolyse des protéines (Simon & Azam, 1989). La comparaison des deux traitements montre qu'en effet le TCA 5% hydrolyse moins de matériel cellulaire marqué que le TCA 20% (tableau 2.7) ; cependant la digestion par la DNase du précipité résistant à l'hydrolyse au TCA 5% montre que l'ADN semble incomplètement hydrolysé (tableau 2.7). Ce résultat est en accord avec les observations de Riemann (1984) et Servais *et al.* (1987) utilisant du ¹⁴C-ADN purifié. En conclusion, aucune des méthodes testées n'apparaît adéquate pour déterminer la proportion du marquage (³H) thymidine dans les protéines.

c6. Fraction soluble dans l'éthanol

Robarts *et al.* (1986) et Robarts & Wicks (1989) ont montré qu'une fraction significative du marquage par la thymidine (jusqu'à 76% du total) pouvait être extraite par l'éthanol 80% froid. Ils ont pu l'attribuer à de la thymidine associée aux phospholipides de l'enveloppe cellulaire. Hollibaugh (1988) avec le même rinçage retirait une fraction plus faible mais toujours significative (15-23%). En baie de Biétri, (tableau 2.8), le rinçage à l'éthanol retire en moyenne 14.9% (8.1 à 19.4%, n=7) du marquage (³H) thymidine dans le précipité TCA 5%. Sur quatre expériences, l'éthanol extrait systématiquement d'avantage de matériel marqué du précipité TCA (moyenne 15.1%) qu'après traitement au phénol-chloroforme (moyenne 8.4%), ce qui n'est pas surprenant dans la mesure où le chloroforme est également un solvant des lipides.

Tableau 2.8 : Pourcentage du marquage perdu par rinçage à l'éthanol 80% après incorporation de (³H) thymidine et leucine. Entre parenthèses, pourcentage du précipité total.(Baie de Biétri, 20/12/89)

Traitement	TCA froid	NaOH 60°C	TCA 20% 100°C
Thymidine	15	28 (22)	48 (31)
Leucine	1.5	32 (23)	19 (9)

De plus, Roberts & Wicks (1989) ont montré que l'éthanol pouvait retirer jusqu'à 87% du marquage thymidine après hydrolyse acide ou basique. Hollibaugh (1988) a observé des pertes de 10 à 31% du marquage après ces traitements. En baie de Biétri, trois expériences montrent qu'une part importante de matériel est soluble dans l'éthanol après extraction au TCA bouillant ou à la soude 1N à 60°C (voir exemple en tableau 2.8). Dans tous les cas ces fractions sont supérieures à celles directement extraites du précipité TCA. Il est donc difficile d'estimer la contribution du matériel soluble à l'éthanol dans les trois fractions obtenues par la procédure acide-base. Finalement, la présence d'une fraction soluble dans l'éthanol est probablement une source d'erreur supplémentaire lors de l'hydrolyse acide-base.

L'ADN ne semble pas extrait par l'éthanol, la digestion par la DNase n'ayant montré aucune différence avec ou sans pré-traitement à l'éthanol, en accord avec les résultats de Roberts *et al.* (1986). Cette fraction soluble à l'éthanol peut expliquer une part du marquage non extrait par les digestions enzymatiques. Si cette fraction est retirée, la part non expliquée par la procédure enzymatique se réduit en moyenne à 29.3% (n=3) au lieu de 45,4%. Elle peut être due à une hydrolyse insuffisante par l'une au moins des enzymes utilisées. L'activité insuffisante de la protéinase K a été montrée mais cela n'exclut pas une activité insuffisante de la DNase. Cependant, la sous-estimation de l'ADN marqué, si elle existe ne doit pas être très importante. En effet, l'extraction au phénol-chloroforme donne une surestimation de l'ADN marqué (moyenne 41.1%, n=4). Le traitement à la protéinase de cet "ADN" a révélé qu'une part significative du marquage était due à des protéines (environ 10% du précipité TCA initial, et cette fraction est probablement sous-estimée par la protéinase). Donc si la contribution de l'ADN marqué est sous-estimée avec la procédure enzymatique (moyenne 17.7%, n=3), celle-ci ne peut excéder 30% du marquage total en baie de Biétri.

c7. Comparaisons des méthodes dans d'autres milieux

Certaines divergences entre les méthodes de fractionnement n'ont pas été observées au cours d'autres études. En utilisant la digestion enzymatique et l'hydrolyse acide-base, Riemann (1984) a obtenu des résultats comparables. En employant la digestion enzymatique, Wicks & Roberts (1987) ont montré que l'ADN était le seul composé marqué présent après les lavages à l'éthanol et au phénol-chloroforme. Enfin en utilisant la (³H) adénine, Bell & Riemann (1989) ont obtenu des résultats comparables avec l'hydrolyse acide-base (Fuhrman & Azam, 1982) et l'extraction au phénol-chloroforme (Wicks & Roberts, 1987).

Afin de préciser si ces résultats contradictoires étaient caractéristiques de la lagune Ebrié, nous avons comparé les fractionnements par hydrolyse acide-base et hydrolyse enzymatique après incorporation de thymidine dans un échantillon d'eau de mer côtière à un endroit non influencé par l'eau de lagune. Bien que la contribution du marquage dans l'ADN ait augmenté jusqu'à 51% du marquage dans le précipité TCA froid, le fractionnement était encore contradictoire avec les deux méthodes (tableau 2.9). Ce résultat suggère que les différences peuvent être observée dans d'autres écosystèmes plus oligotrophes que la lagune Ebrié.

Tableau 2.9 : Digestion enzymatique et hydrolyse acide-base après incorporation de (³H) thymidine dans un échantillon d'eau côtière (20/12/89).

TRAITEMENT	TCA 5%	ADN	ARN	Protéines	NE
Digestion enzymatique	100	51.0	0.1	7.5	41
Hydrolyse acide-base	100	15.3	60.9	23.8	-

Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'incorporation totale dans le précipité TCA (17 pmoles l⁻¹h⁻¹).
NE : non expliqué.

c8. Validité de la mesure

On peut se demander si une aussi faible spécificité du marquage dans l'ADN n'invalide pas la méthode. Carman *et al.* (1988) et Brittain & Karl (1990) suggèrent que la faible spécificité du marquage par la thymidine indique un catabolisme important du traceur et que l'extraction spécifique de l'ADN ne résout pas le problème. En effet, l'analyse des résidus nucléotidiques de l'ADN a montré un marquage significatif des quatre deoxynucléotides avec l'utilisation de ³H-Tdr (Brittain & Karl, 1990). Ceci indique qu'une part significative du tritium a effectué un parcours complexe dans le métabolisme cellulaire avant de marquer l'ADN. Cela semble toutefois essentiellement dû à leurs conditions d'expérimentation. Brittain & Karl (1990) mentionnent, en effet, qu'après 2 heures d'incubation à 22°C, 63% de la radioactivité injectée (14.5 nM) était incorporée dans l'ADN, soit une incorporation moyenne de 5.25 nmol l⁻¹h⁻¹ (probablement très sous-estimée lorsque une telle proportion de la radioactivité initiale est incorporée). Il est probable qu'une durée d'incubation de 2

heures représente une durée trop longue vis-à-vis du temps de génération d'un assemblage aussi actif. Le marquage non spécifique peut alors se répandre dans tous les compartiments cellulaires. De courtes durées d'incubation vis-à-vis du cycle cellulaire ne semblent pas conduire à de tels artefacts (Moriarty & Pollard, 1990). Cette faible spécificité du marquage en lagune Ebré, obtenue à l'aide d'incubations de courte durée (20 minutes pour un temps de doublement de quelques heures) ne rend donc pas la méthode inopérante en lagune. La faible proportion d'ADN marqué oblige donc à corriger les valeurs d'incorporation et à s'interroger sur d'éventuelles fluctuations de cette proportion.

c9. Application en lagune

L'extraction par la DNase semble être la meilleure des méthodes applicables sur le terrain pour extraire l'ADN des assemblages bactériens de la lagune Ebré. Cette procédure a été appliquée par la suite en divers sites de la lagune (toujours avec la même durée d'incubation : 20 min et la même concentration de traceur : 20nM) dans des conditions environnementales variées incluant la profondeur, la concentration en oxygène (supérieure à zéro), la salinité et l'heure du jour.

La proportion du marquage dans l'ADN est apparue constante sur une large gamme d'incorporations dans le précipité TCA (0.1 à 3.03 nmol l⁻¹ h⁻¹; Fig. 2.12).

Une régression linéaire donne l'équation suivante :

$$\text{ADN} = 0.201 \text{ TCA} - 0.006 \quad (r=0.952, n=101).$$

L'ordonnée à l'origine n'est pas différente de zéro ($p = 0.36$) la moyenne lagunaire est de 19.2% (18.2% à 20.2% limites de l'intervalle de confiance à $\alpha=0.05$).

Dans le but de valider les données d'incorporation de thymidine dans le précipité TCA réalisées antérieurement, des relations éventuelles entre proportion de marquage dans l'ADN et diverses variables environnementales ont été recherchées. Aucune tendance significative ($P < 0,05$) n'a pu être notée en fonction de l'activité totale, de la conductivité ou du niveau d'oxygénation (Tab. 2.10a). Par ailleurs, les moyennes obtenues sur les trois sites, et de jour et de nuit, ne diffèrent pas significativement les unes des autres ($P > 0,05$; Tab 2.10b).

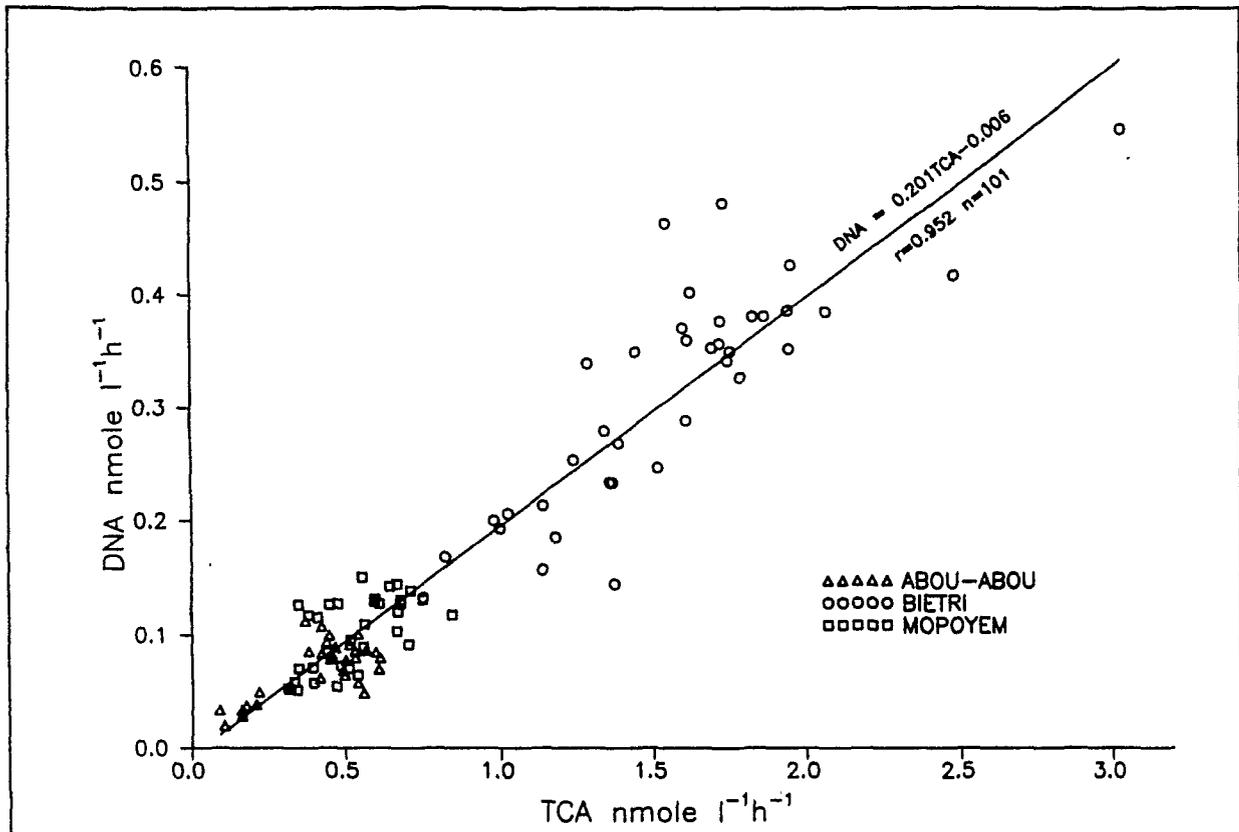


Figure 2.12 : Incorporation de thymidine dans le précipité TCA total et dans l'ADN (extraction par la DNase).

Tableau 2.10a : Corrélations de rangs (Spearman) entre la proportion d'ADN marqué dans le précipité TCA total et divers paramètres de l'environnement lagunaire.

PARAMETRE	Activité totale (TCA) nmol l ⁻¹ h ⁻¹	Conductivité (mS cm ⁻¹)	O ₂ Dissous (mg l ⁻¹)
Coeff. de corrélation avec % dans l'ADN	0.048	0.097	0.119
Probabilité	0.63	0.37	0.35
nombre de points	101	88	63
Minimum du paramètre	0.090	2.32	2.07
Maximum du paramètre	3.036	10.58	10.67

Tableau 2.10b : Comparaison des proportions moyennes d'ADN marqué dans le précipité TCA total dans les trois baies et de jour et de nuit (test t de student).

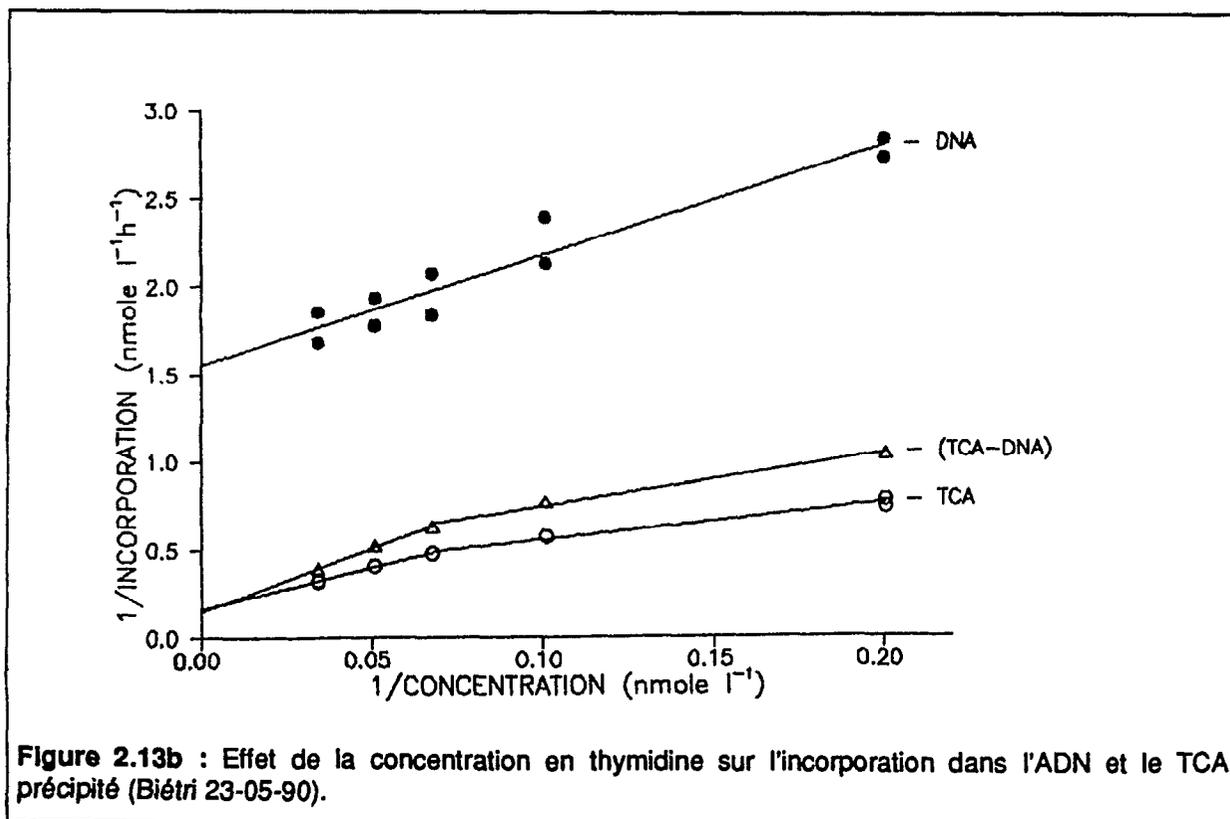
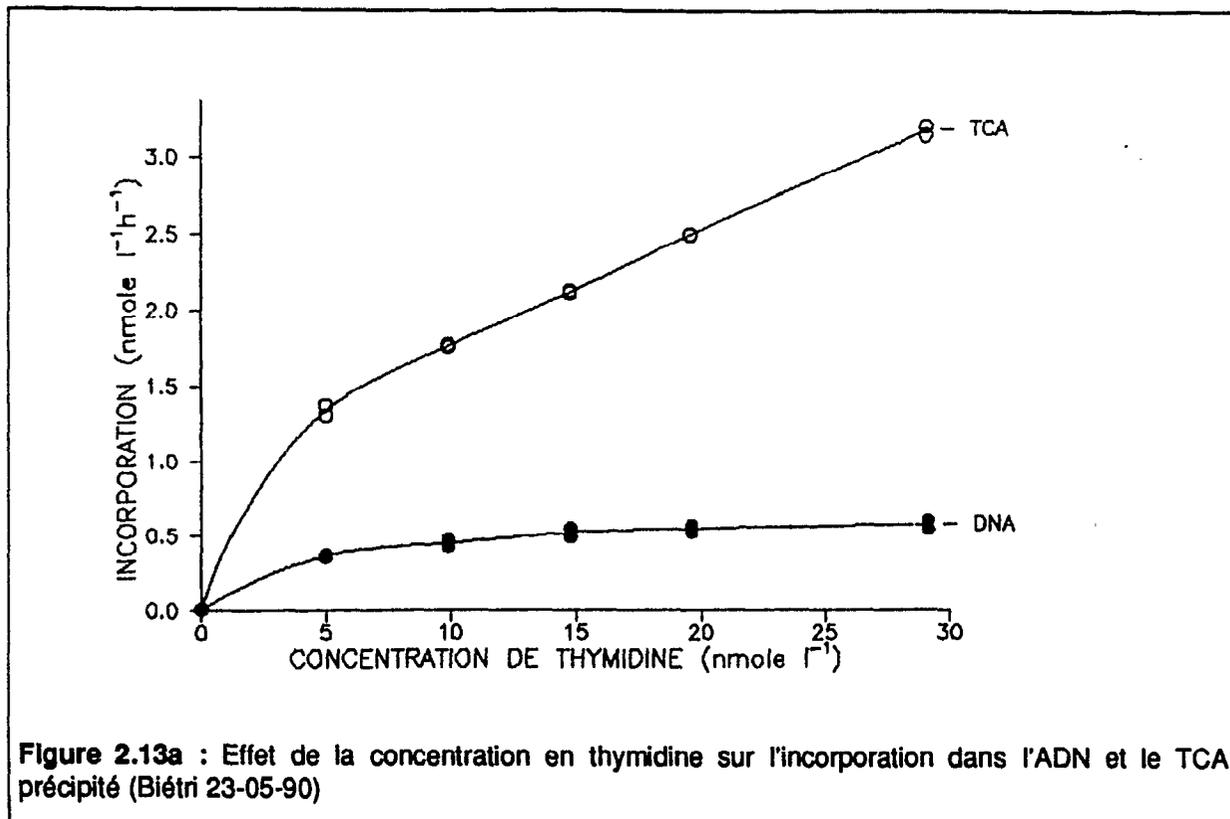
	Abou-Abou	Biétri	Mopoyem	Jour	Nuit	Toutes
Moyenne	18.1	19.9	19.6	19.4	19.0	19.2
Limites ($\alpha=0.05$)	(16.2-20.0)	(18.3-21.5)	(17.7-21.4)	(18.1-20.7)	(17.4-20.6)	(18.2-20.2)
N	31	37	33	61	40	101
Abou-Abou	----	1.59 ^a	1.03			1.07
Biétri	NS ^b	----	0.30			0.74
Mopoyem	NS	NS	----			0.31
Jour				----	0.37	0.74
Nuit				NS	----	0.25
Toutes	NS	NS	NS	NS	NS	----

^a : valeur de t, ^b : probabilité d'une différence non nulle

c10. Effet de la concentration en Tdr sur la répartition du marquage

Moriarty (1986) a montré que la proportion du marquage dans l'ADN dépendait de la durée d'incubation (les vitesses d'incorporation dans l'ADN et les autres macromolécules ne sont pas identiques), c'est pourquoi toutes les mesures ont été effectuées avec la même durée d'incubation.

L'extraction de l'ADN marqué après l'incorporation à différentes concentrations de thymidine montre que cette proportion dépend également de la concentration utilisée (fig. 2.13). La vitesse maximum d'incorporation semble atteinte à de plus faibles concentrations dans l'ADN que dans les autres macromolécules.



d. Conclusions

d1. Choix d'une méthode d'extraction de l'ADN

Cette étude montre que la procédure acide-base n'est pas adéquate pour quantifier la fraction d'ADN marquée par la thymidine en lagune Ebré. Quelques auteurs ont rapporté des résultats comparables (Robarts *et al.* 1986 ; Servais *et al.* 1987) alors que d'autres la trouvent efficace (Bell & Riemann, 1989). L'extraction au phénol-chloroforme semble également inadaptée dans ce milieu, alors qu'elle donne satisfaction dans d'autres écosystèmes (Wicks & Robarts, 1987). Ce travail n'apporte pas la preuve que l'extraction enzymatique de l'ADN est réellement quantitative. Bien que Servais *et al.* (1987) aient montré l'hydrolyse complète de l'ADN purifié de *E.coli* par la DNase il reste à démontrer que celle-ci suffit à hydrolyser tout l'ADN marqué d'un assemblage bactérioplanctonique naturel. Toutefois, cette procédure peut certainement être considérée comme étant spécifique et donc donnant au moins une sous-estimation de l'ADN marqué. La comparaison avec l'extraction au phénol-chloroforme montre que cette sous-estimation, si elle existe, ne doit pas être importante.

Il convient de remarquer qu'une bonne méthode d'extraction, c'est à dire, permettant d'obtenir de l'ADN faiblement contaminé, peut être inadéquate si la fraction contaminante est fortement marquée. Aucun travail n'a montré que le marquage non spécifique par la thymidine était distribué de manière uniforme dans la fraction protéique. Les protéines liées à l'ADN dans les cellules vivantes pourraient être fortement marquées et moins faciles à séparer en utilisant des procédures standard. Dans les milieux où le marquage non spécifique par la thymidine est important, il faut probablement préférer les méthodes spécifiques au risque de sous-estimer légèrement l'ADN marqué.

L'extraction enzymatique apparaît donc, dans l'état actuel de nos connaissances, comme la méthode la plus appropriée pour extraire spécifiquement l'ADN bactérien marqué par la thymidine en lagune Ebré.

d2. Impossibilité de décrire la répartition complète du marquage

Le traitement par la protéinase K semble insuffisant pour hydrolyser toutes les protéines marquées par la thymidine ou la leucine. Aucune des méthodes employées n'a donc permis de décrire complètement la répartition du marquage issu de la thymidine tritiée en lagune Ebré.

d3. Proportion du marquage dans l'ADN en lagune Ebré

La proportion d'ADN marqué par la thymidine en lagune Ebré apparaît très constante (19,2% ± 1% aux 3 sites étudiés). Cette constance permet d'interpréter le marquage du TCA précipité en marquage dans l'ADN, aux mêmes sites, lorsque l'extraction enzymatique n'a pu être réalisée.

Certains auteurs ont également mentionné des proportions constantes dans un milieu donné. Ducklow *et al.* (1990) en utilisant le phénol-chloroforme ont trouvé 40% dans la baie de Chesapeake et 80% dans l'Atlantique), Bell & Riemann (1989) rapportent une valeur constante de 85% dans un lac Suédois. Il semble que les valeurs les plus variables soient obtenues avec la méthode acide-base

lorsque la proportion moyenne observée est relativement faible (voir Tab. Brittain & Karl, 1990), ce qui pourrait s'expliquer par la faible spécificité de cette méthode.

La proportion d'ADN marqué par la thymidine en Lagune Ebré se situe parmi les plus faibles publiées, dans un écosystème qui est plutôt à considérer comme eutrophe. Une décroissance de la proportion du marquage dans l'ADN a été quelquefois mentionnée lorsque les concentrations en nutriments baissent (Hanson & Lowery, 1983 ; Servais *et al.* 1987 ; Cho & Azam, 1988) ; cette tendance a été interprétée comme étant un processus d'adaptation pour tirer un avantage de toute source de carbone ou d'azote. Des proportions d'ADN marquées très faibles ont également été déterminées dans des écosystèmes limniques mésotrophes (Riemann *et al.* 1982 ; Mc Donough *et al.* 1986 ; Bloem *et al.* 1989) et eutrophes (Robarts *et al.* 1986 ; Ducklow *et al.* 1990 ; Servais, 1987). Il semble, d'une manière générale, que les assemblages bactériens présents dans les écosystèmes continentaux montrent une spécificité de marquage plus faible dans l'ADN que ceux issus des milieux marins (Hobbie, 1988).

Ces observations, difficiles à interpréter actuellement, montrent à quel point il est important d'extraire spécifiquement l'ADN lorsque l'on étudie les milieux frontières comme les estuaires, les lagunes et les panaches où les valeurs d'incorporation de thymidine n'ont probablement pas la même signification en terme de productivité bactérienne le long des discontinuités.

Quoi qu'il en soit, la variabilité des résultats obtenus avec les trois méthodes en lagune Ebré suggère que la comparaison des répartitions du marquage obtenues avec des méthodes différentes est hasardeuse. Certaines méthodes peuvent être appliquées avec succès dans certains environnements et être à l'origine de larges erreurs dans d'autres, notamment quand le marquage non spécifique est important, comme en lagune Ebré. Les travaux portant sur l'étude de la productivité bactérienne par incorporation de thymidine commencent généralement par la recherche des conditions optimales de la mesure dans le milieu étudié (concentration du traceur, période de linéarité etc...) et ces conditions varient généralement d'un milieu à l'autre, même si des tendances peuvent être dégagées. De manière similaire, il n'y a pas de raisons *a priori* pour que les différentes méthodes de fractionnement soient efficaces avec n'importe quel assemblage bactérien. Ces méthodes facilement applicables sur le terrain sont imparfaites et les biais qu'elles entraînent dépendent probablement des voies métaboliques suivies par le tritium, donc des assemblages bactériens étudiés.

Dans cette hypothèse tester la validité des méthodes en utilisant un composé purifié, comme c'est le cas généralement (Findlay *et al.* 1984 ; Mc Donough *et al.* 1986 ; Servais *et al.* 1987) ne donnera pas une indication réelle de sa validité dans le milieu. L'approche utilisée en lagune, bien que plus fastidieuse, fournit une vérification indépendante de la validité des méthodes employées.

III. CONVERSION DE L'INCORPORATION DE THYMIDINE EN PRODUCTION DE BIOMASSE BACTERIENNE

1. Introduction

La faiblesse principale de la technique d'incorporation de thymidine est qu'elle n'aboutit pas directement à une estimation de la production bactérienne en terme de carbone ou de cellules. Dans l'hypothèse où l'on mesure quantitativement la synthèse de l'ADN bactérien, ce qui requiert un certain nombre de suppositions (voir plus haut), il reste encore à convertir la vitesse de synthèse d'ADN bactérien en production de biomasse bactérienne. Cette étape cruciale a suscité de nombreux travaux. On peut classer les approches employées en trois groupes :

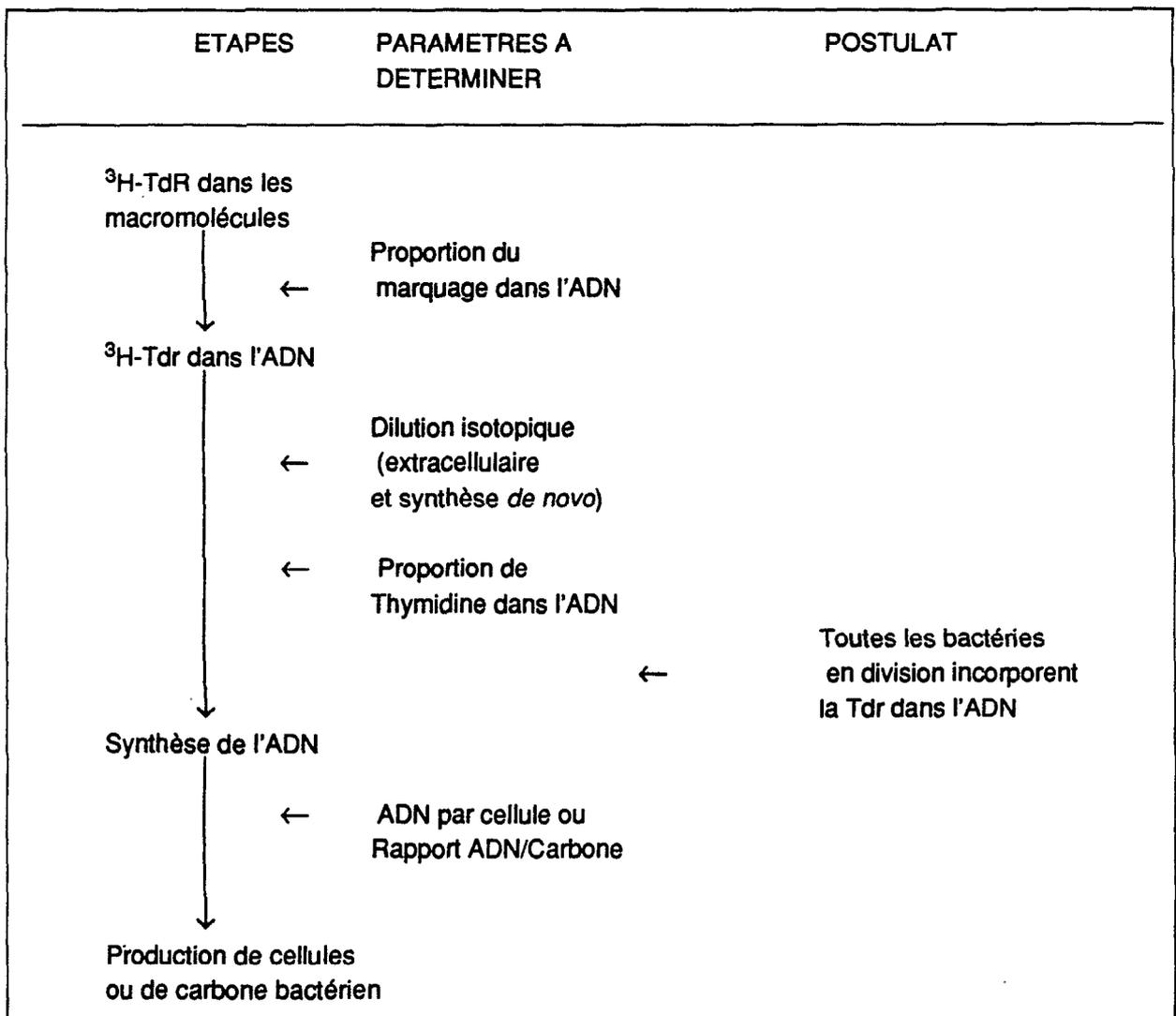
Le calcul théorique (Fuhrman et Azam, 1980)

La détermination empirique, dans un système de calibration (Kirchman *et al.* 1982)

La validation indépendante (Cole *et al.* 1989)

a. Le calcul théorique

Cette approche peut être résumée par le schéma suivant :



Cho et Azam (1988) ont discuté chacune de ces étapes. On peut en dégager les points suivants :

La dilution isotopique extracellulaire peut être considérée comme négligeable dans la plupart des environnements aquatiques. Les concentrations sont en général subnanomolaires même au niveau des sédiments (Moriarty, 1988). La synthèse *de novo* semble être inhibée lorsque l'on utilise une concentration saturante de TdR (Moriarty, 1986).

La proportion de résidus thymine dans l'ADN, que l'on estime par convention à 25% (correspondant à un GC% de 50 ; Fuhrman et Azam, 1980), peut varier entre 28 et 70% (Cho & Azam, 1988, bien que ces valeurs extrêmes soient peu vraisemblables dans un peuplement mixte) et dépend donc vraisemblablement du peuplement étudié.

On admet généralement que le contenu en ADN des bactéries est de 2.5 à 5 fg par cellule (Simon & Azam, 1989), bien que des valeurs supérieures aient pu être reportées, (5.8 à 14 fg/cellule ; Paul & Carlson, 1984). Il est possible que celui-ci varie avec la taille des cellules et leur taux de croissance (multiples fourches de réplication). Dans une culture d'eau de mer, Cho et Azam (1988) ont ainsi observé une augmentation du contenu par cellule de 3.3 dans l'inoculum à 6.1 en phase exponentielle. Le rapport carbone bactérien/ADN ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) semble augmenter de 4 à 11 pour des cellules de 0.03 à 0.4 μm^3 (Simon & Azam, 1989). Ainsi, avec des valeurs d'ADN comprises entre 2.5 et 5 10^{-15}g par cellule et une proportion de résidus thymine de 15 à 36% (GC% de 70 à 28) on peut s'attendre à un facteur compris entre 1.7 10^{17} et 7.4 10^{17} cellules par mole de thymidine incorporée dans l'ADN, soit un facteur 4.4.

Il est donc peu vraisemblable que l'on puisse dégager un facteur de conversion unique valable pour tous les écosystèmes aquatiques. Le calcul d'un facteur de conversion nécessite la détermination de chacun des paramètres cités plus haut dans le milieu étudié. Ce n'est malheureusement pas toujours possible. Ainsi, la présence d'ADN détritique dans les milieux riches, comme les lagunes côtières ou les estuaires (Paul & Carlson, 1984, Paul *et al.* 1985, 1988) exclut de pouvoir directement estimer la quantité d'ADN par cellule sans passer par des cultures de dilution telles que celles utilisées pour la détermination empirique. Dans l'hypothèse où un rapport unique carbone/ADN se révélerait valide dans tous les milieux étudiés, il resterait à démontrer qu'une proportion constante des bactéries en croissance incorporent la thymidine exogène dans l'ADN. Cela ne semble pas non plus être le cas (Davis, 1989 ; Douglas *et al.* 1987 ; Pedros-Alio & Newell, 1989).

Ainsi, il semble donc, pour l'instant, préférable de calculer une relation empirique entre incorporation de thymidine et production de biomasse bactérienne pour chaque écosystème étudié.

b. Détermination empirique dans un système de calibration

Le principe est de supprimer le contrôle de la biomasse bactérienne et d'observer simultanément l'évolution de l'incorporation de thymidine et de la biomasse bactérienne afin de calculer la biomasse produite par mole de thymidine incorporée. On suppose évidemment que l'assemblage bactérien en croissance dans la culture conserve au cours du temps les mêmes caractéristiques que celui dont on veut déterminer l'activité *in situ*.

Ces cultures sont le plus souvent réalisées en inoculant une fraction d'eau du milieu tamisée sur membrane de 0.6 à 2 μm (pour en éliminer les prédateurs microzooplanctoniques) dans un volume de la même eau filtrée sur membrane de 0.2 μm (pour éliminer un éventuel contrôle par les nutriments). Ce traitement suffit en général pour observer une courbe typique de croissance bactérienne en trois phases ; phase de latence, phase exponentielle, plateau ou décroissance. Le facteur de conversion empirique peut être obtenu par différents calculs reposant sur des conditions préalables différentes. Ils seront discutés plus loin.

Cette approche présente l'avantage d'éviter la détermination de tous les paramètres indispensable au calcul théorique et de tenir compte de l'éventuelle présence de bactéries en croissance, incorporant peu ou pas la thymidine exogène (Davis, 1989 ; Douglas *et al.* 1987 ; Pedros-Alio & Newell, 1989). Enfin la variation des Facteurs de Conversion (FC) obtenus avec différents traitements (apports d'éléments limitants) et une méthodologie identique (Coveney & Wetzel, 1988) suggère que le calcul théorique ne prend peut-être pas en compte toutes les spécificités d'un peuplement bactérien.

c. Validation par une méthode indépendante

La troisième approche permettant de déterminer un facteur de conversion ou au moins d'en discuter la validité est d'obtenir une estimation indépendante de l'activité bactérienne. Une illustration de cette approche est l'étude réalisée par Cole *et al.* (1989) sur le Mirror Lake (USA). Dans ce lac entrées et sorties de la matière organique sont déterminées. La perte de carbone du système a été estimée et les contributions du zooplancton et du phytoplancton ont été retirées. La perte résiduelle attribuée à la respiration bactérienne a été comparée aux taux d'incorporation de thymidine sur la même période et a permis d'établir des couples de valeurs probables d'efficacité de croissance et de facteurs de conversion.

La respiration bactérienne peut également être déterminée par la consommation d'oxygène à l'obscurité. La consommation bactérienne d'oxygène est obtenue le plus souvent par fractionnement. Elle peut également être obtenue par une analyse statistique (Jensen *et al.* 1990). Enfin, dans certains biotopes particuliers, comme certains sédiments on attribue aux bactéries l'essentiel de l'activité respiratoire déterminée. Ainsi, Fallon & Boylen (1990) ont comparé la respiration totale dans les sédiments d'un lac oligotrophe et la production bactérienne par la mesure d'incorporation de thymidine et de la fréquence de division cellulaire (FDC). Ils ont ainsi montré que les activités respiratoires mesurées étaient en accord avec l'incorporation de thymidine (en utilisant un facteur de $2 \cdot 10^{18}$ cellules par mole) alors qu'elles étaient incompatibles avec les valeurs de production estimées par

FDC. Trois approches similaires ont été utilisées dans des écosystèmes benthiques (Fallon *et al.* 1983 ; Bell & Ahlgren, 1987 ; Cammen, 1991).

Enfin, Bjornsen (1988) a comparé, dans des flacons où la biomasse était stable, les pertes de biomasse bactérienne par prédation et l'incorporation de thymidine. Cette approche peut également donner une estimation indépendante du facteur de conversion, si l'on admet que la prédation est la seule source de disparition de la biomasse bactérienne et que celle-ci est déterminée de manière fiable.

2. Approches utilisées en lagune Ebré

a. Détermination empirique

a1. Méthodologie

L'inoculum est préparé en tamisant 50 ml d'eau du milieu sur membrane Nucléopore de 2 μm puis est ajouté à 450 ml d'eau du milieu filtrée sur membrane de 0.2 μm . Toutes les filtrations sont effectuées sous dépression réduite (< 5cm de Hg) afin de minimiser l'enrichissement provoqué par l'éclatement des organismes fragiles. Les cultures sont incubées à 30°C en lumière atténuée sous légère agitation. A différents intervalles de temps, des échantillons sont prélevés pour déterminer la biomasse bactérienne et l'incorporation de thymidine dans le TCA précipité. A quelques exceptions près, la détermination de la biomasse bactérienne n'est effectuée que sur les intervalles de temps où l'incorporation de thymidine indique une phase exponentielle de croissance.

Afin d'observer d'éventuelles variations du facteur de conversion avec le site ou l'époque du prélèvement, au moins un étalonnage empirique a été effectué au cours de chaque cycle nyctéméral étudié.

a2. Résultats

a2.1. Production de biomasse et incorporation dans le TCA précipité

Le volume bactérien moyen augmente généralement au cours de la culture et l'incorporation de thymidine est toujours mieux corrélée à la biomasse (biovolume) cellulaire qu'à l'abondance bactérienne (tab. 2.11, fig. 2.14A-L). Cette augmentation du volume moyen peut avoir deux origines, non exclusives : (1) une augmentation de la taille des bactéries (2) un taux de croissance plus élevé des bactéries les plus volumineuses.

Cette alternative n'est pas sans importance. Dans le premier cas, l'incorporation de thymidine doit être reliée au nombre de cellules et l'augmentation du volume cellulaire moyen n'est qu'un artefact. Dans le second cas, la relation avec le volume bactérien total est justifiée par les caractéristiques du peuplement en croissance active (les cellules plus grosses ont un taux de croissance supérieur). Le parallélisme entre augmentation du biovolume et incorporation de thymidine suggère la deuxième solution. L'étude de l'évolution des abondances par classe de taille montre que les plus petites cellules ne disparaissent pas lors de l'augmentation du volume moyen (fig. 2.15, 2.16). Cette différence des taux de croissance avec la taille bactérienne a déjà été montrée en baie de Biétri (Torréton *et al.* 1989). Ces grosses cellules, à taux de croissance plus élevé, pourraient subir un

contrôle plus actif *in situ* par le micro-zooplancton (Andersson *et al.* 1986 ; Newell & Turley, 1987 ; Chrzanowski & Simek, 1990 ; Gonzalez *et al.* 1990) ce qui expliquerait leur rapide prédominance dans les cultures d'eau de lagune en l'absence de prédation.

Le calcul du facteur de conversion, ne peut en toute rigueur être effectué que lorsque l'incorporation de thymidine et la biomasse bactérienne montrent le même taux de croissance. A partir de ce protocole, deux méthodes de calcul sont alors possible :

(1) L'approche de Kirchman *et al.* 1982 qui permet de calculer le facteur de conversion (FC) par la formule :

$$FC = \mu N(0)/T(0)$$

avec :

FC : cellules produites par nmole de thymidine incorporée

μ : taux de croissance de l'assemblage bactérien (h^{-1})

$N(0)$: abondance bactérienne à t_0 (cellules l^{-1})

$T(0)$: incorporation de thymidine à t_0 (nmoles $l^{-1}h^{-1}$)

Ce mode de calcul a toutefois l'inconvénient d'exiger une croissance exponentielle sans phase de latence.

(2) La deuxième manière de calculer, moins contraignante, consiste à diviser la biomasse produite par l'intégrale de l'incorporation de thymidine calculée à partir des mesures ponctuelles sur les intervalles où incorporation de thymidine et biomasse croissent parallèlement (Riemann *et al.* 1987). La biomasse produite est simplement estimée par la différence des biomasses entre deux mesures successives. L'intégrale d'incorporation de thymidine est calculée de la manière suivante :

En phase exponentielle, elle suit une équation du type : $T(t)=T(0) \exp(\mu t)$

avec $T(t)$, incorporation de thymidine au temps t ; $T(0)$ incorporation de thymidine au temps t_0 et μ taux de croissance (h^{-1}).

On a alors :

$$\int T(t) = 1/\mu T(0) \exp(\mu t) + cte$$

Soit entre t_1 et t_2 :

$$\int_{t_2}^{t_1} thym = (1/\mu T(0) \exp(\mu t_2) + cte) - (1/\mu T(0) \exp(\mu t_1) + cte)$$

ou

$$\int_{t_2}^{t_1} thym = (T(t_2)-T(t_1))/\mu$$

Ce calcul a été utilisé pour les 12 étalonnages effectués en lagune, les résultats sont exposés sur le tableau 2.11.

Tableau 2.11 : Etalonnages réalisés en lagune Ebré.

ECH.	T	Heure	Thym. pmole l ⁻¹ h ⁻¹	Abondance 10 ⁹ Cellules l ⁻¹	Volume Cellulaire moyen µm ³	Biovolume 10 ⁶ µm ³ l ⁻¹	Taux de croissance (h ⁻¹) Biovolume (Thym)	Biovolume produit (intégrale tdr) 10 ⁶ µm ³ l ⁻¹ (pmole l ⁻¹)	Facteur de Conversion 10 ¹⁷ µm ³ mole ⁻¹
A1J1	0	0.3	24				T3 à T5		
A1J1	1	2.5	22						
A1J1	2	4.5	33						
A1J1	3	6.3	69	0.50	0.046	22.8			
A1J1	4	8.3	181	0.68	0.088	59.9	0.501	146.2	1.72
A1J1	5	10.3	482	1.87	0.090	169.0	(0.486)	(850)	
A1J1	6	12.0	1044						
A1J2	0	0.0	26				T1 à T3		
A1J2	1	3.5	41	0.54	0.036	19.5			
A1J2	2	6.2	98	0.80	0.053	42.1	0.256	61.9	1.12
A1J2	3	9.1	194	1.09	0.075	81.4	(0.277)	(552)	
A1J2	4	12.1	691						
A1J2	5	15.3	898						
A2	0	0.36	6				T4 à T5		
A2	1	3.4	59						
A2	2	5.4	95						
A2	3	7.4	106	1.49	0.047	70.3			
A2	4	9.3	191	1.61	0.042	68.3	0.519	142.1	2.01
A2	5	11.4	516	2.25	0.094	210.5	(0.459)	(708)	
A2	6	13.3	713						
B1J1	0	0.0	68	1.30	0.042	55.2	T0 à T2		
B1J1	1	4.0	146	1.17	0.121	142.0	0.260	304.2	2.13
B1J1	2	7.2	436	1.64	0.219	359.4	(0.258)	(1426)	
B1J1	3	11.3	1786						
B1J2	0	0.0	67	1.17	0.068	80.0	T0 à T2		
B1J2	1	3.8	180	1.33	0.141	188.2	0.232	509.1	2.58
B1J2	2	8.6	550	3.47	0.170	589.1	(0.244)	(1977)	
B1J2	3	11.3	1133						
B2J1	0	0.3	19				T1 à T3		
B2J1	1	4.2	96	1.01	0.041	41.3			
B2J1	2	7.3	267	2.30	0.057	130.2	0.362	151.3	1.63
B2J1	3	8.4	416	2.50	0.077	192.6	(0.345)	(927)	
B2J1	4	10.3	569						
B2J1	5	11.6	788						
B2J2	0	0.5	41				T1 à T2		
B2J2	1	3.5	108	1.43	0.037	52.8			
B2J2	2	4.8	204	2.51	0.039	96.7	0.436	142.6	2.09
B2J2	3	6.5	415	3.07	0.064	195.5	(0.449)	(684)	
B2J2	4	7.8	615						
B2J2	5	9.3	823						
B2J2	6	10.8	942						
M1J2	0	0.3	17				T1 à T4		
M1J2	1	4.3	14	0.17	0.050	8.4			
M1J2	2	7.0	29	0.33	0.048	15.8			
M1J2	3	9.5	56	0.66	0.058	38.1	0.269	45.87	1.66
M1J2	4	11.2	88	0.95	0.057	54.3	(0.268)	(277)	
M1J2	5	12.5	95	1.10	0.053	57.7			
B3	1	3.0	129	2.08	0.061	127.5	T2 à T4		
B3	2	4.5	226	2.27	0.059	133.8			
B3	3	6.0	403	2.87	0.082	234.6	0.322	217.8	1.77
B3	4	7.5	674	3.55	0.099	351.6	(0.364)	(1230)	
B3	5	9.0	1124						
B3	6	10.5	1829						
B3	7	12.0	3317						
B3	8	13.5	2287						
B3	9	15.0	2310						
B3	10	16.5	2342						
B3	11	24.0	1586						

Tableau 2.11 : Etalonnages réalisés en lagune Ebré (suite)

ECH.	T	Heure	Thym. pmole l ⁻¹ h ⁻¹	Abondance 10 ⁹ Cellules l ⁻¹	Volume Cellulaire moyen µm ³	Biovolume 10 ⁶ µm ³ l ⁻¹	Taux de croissance (h ⁻¹) Biovolume (Thym)	Biovolume produit (intégrale Tdr) 10 ⁶ µm ³ l ⁻¹ (pmole l ⁻¹)	Facteur de Conversion 10 ¹⁷ µm ³ mole ⁻¹
A3	1	3.0	57	0.93	0.039	35.8	T1 à T3	89.7 (339)	2.64
A3	2	4.5	103	1.17	0.061	71.7			
A3	3	6.0	198	1.21	0.104	125.5			
A3	4	7.5	434	1.45	0.079	114.0			
A3	5	9.0	999						
A3	6	10.5	1248						
A3	7	12.0	1601						
A3	8	13.5	2084						
A3	9	15.0	1910						
A3	10	16.5	1784						
A3	11	24.0	1394						
B4	0	2.5	125	0.55	0.078	43	T0 à T2	153.6 (926)	1.66
B4	1	4.0	277	1.01	0.094	94			
B4	2	5.5	619	2.29	0.086	196			
B4	3	7.0	670	3.71	0.083	306			
B4	4	8.5	1081	3.48	0.160	555			
B4	5	10.0	999	3.41	0.207	705			
B5	0	2.5	131	0.88	0.054	47.7	T0 à T2	89.7 (635)	1.41
B5	1	4.0	207	1.30	0.058	75.6			
B5	2	5.5	320	1.88	0.073	137.4			
B5	3	7.0	486	1.95	0.086	167.1			
B5	4	8.5	603	2.09	0.101	210.3			
B5	5	10.0	651	2.62	0.135	354.2			
B5	6	11.5	645	2.54	0.157	399.3			
B5	7	14.0	710	2.82	0.174	489.9			
B5	8	23.0	617	3.90	0.188	732.6			
							Moyenne		1.87
							Limites de		1.59-2.15
							l'intervalle de confiance		
							N		12

A : Abou-abou ; B : Biétri ; M : Mopoyem

Les facteurs de conversion calculés semblent peu varier autour de la valeur moyenne de 1.87 10¹⁷µm³mole⁻¹ (±0.28 10¹⁷ µm³mole⁻¹, limites de l'intervalle de confiance à α=0.05). Aucune tendance n'a pu être notée en fonction du site étudié (Biétri ou Abou-Abou) ou de la période de prélèvement (saison sèche, saison des pluies, saison des crues).

La valeur moyenne 1.87 10¹⁷µm³ produits par mole de thymidine incorporée dans le précipité TCA a donc été retenue aux sites étudiés.

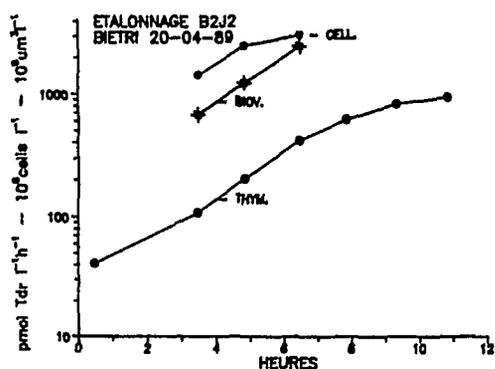
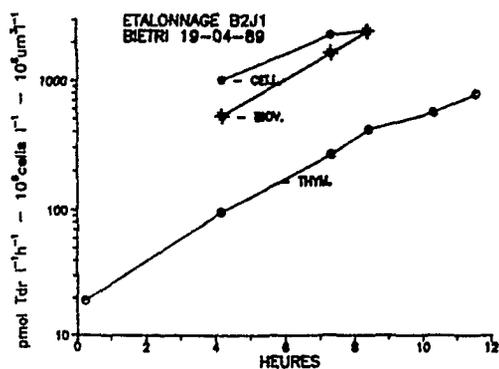
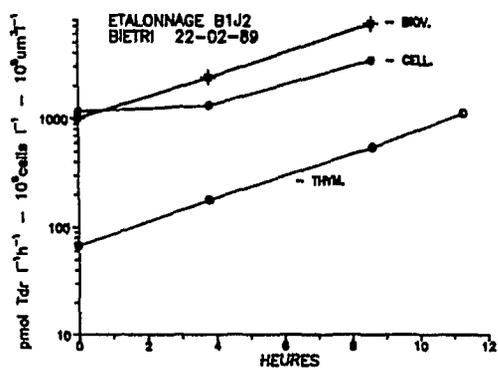
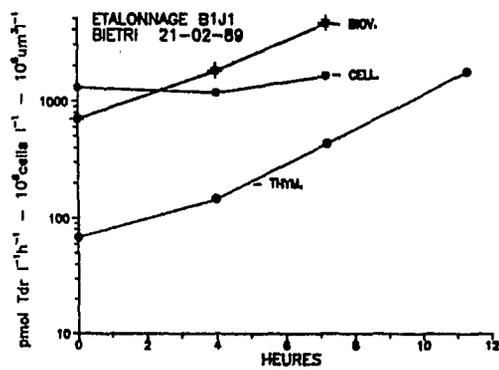
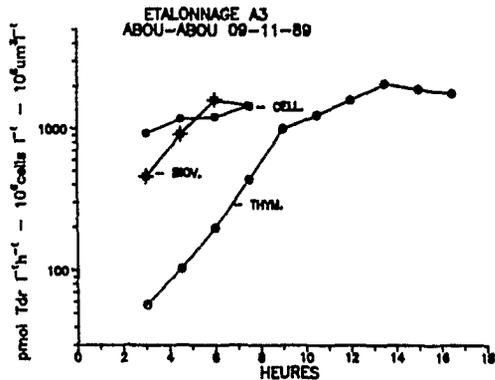
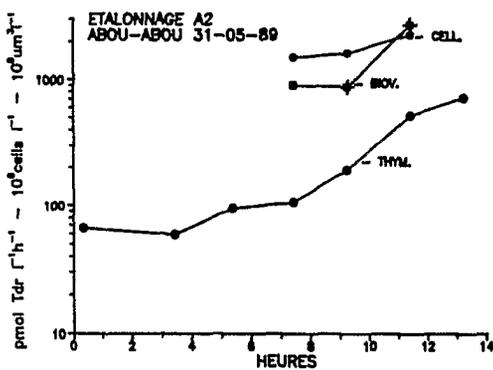
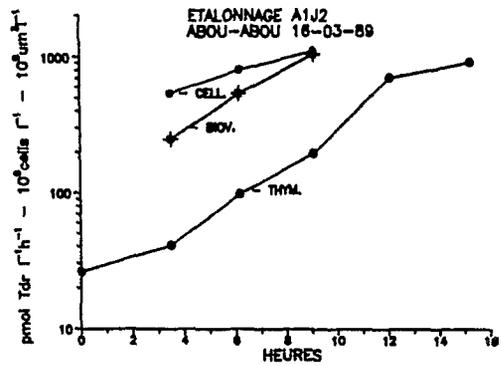
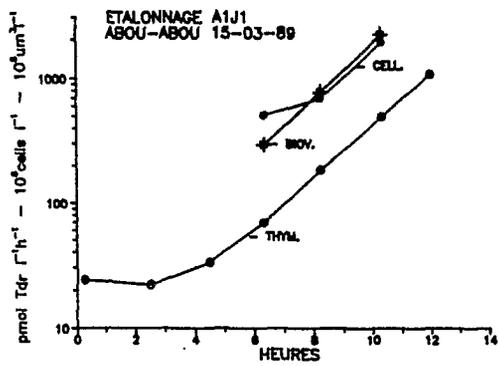


Figure 2.14 : Etalonnages entre incorporation de thymidine et production de biomasse bactérienne.

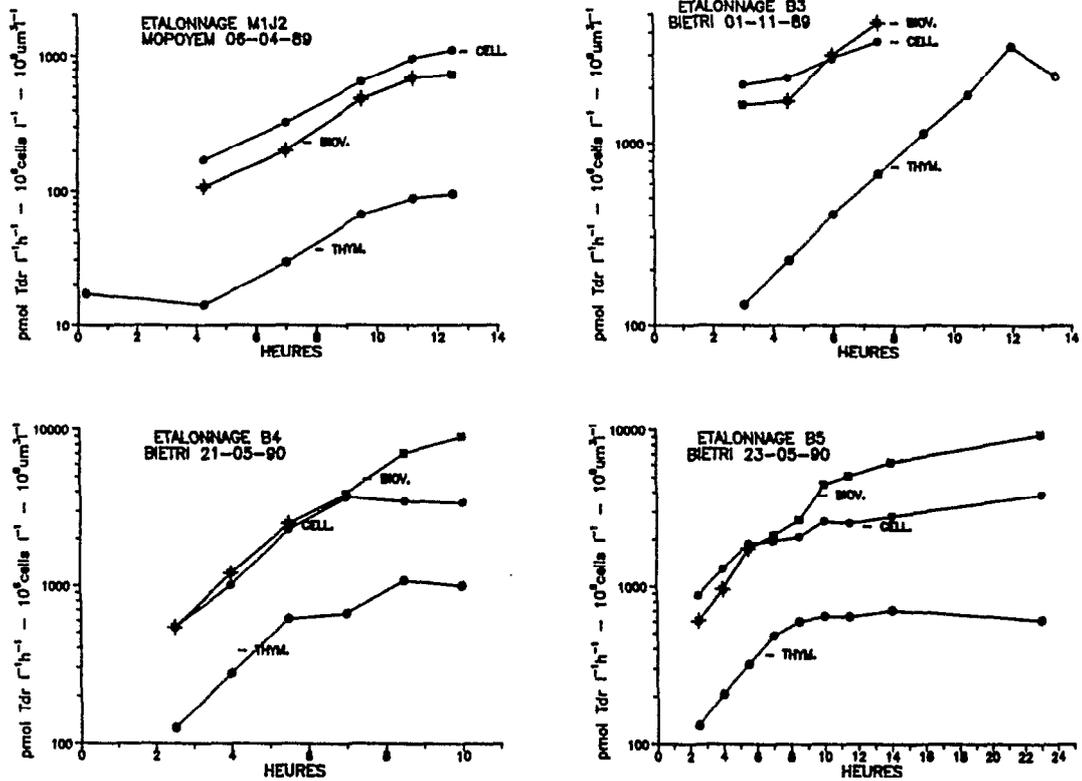


Figure 2.14 (suite) : Etalonnages entre incorporation de thymidine et production de biomasse bactérienne.

a2.2. Proportion du marquage dans l'ADN au cours des étalonnages

Dès que la méthode d'extraction enzymatique de l'ADN a été jugée satisfaisante, son application aux quatre derniers étalonnages a donné des résultats surprenants. Alors que la proportion d'ADN marqué avoisine 20% en lagune (cf fig. 2.12), elle s'est révélée systématiquement plus élevée en phase exponentielle, avoisinant 50% (Tableau 2.11, figures 2.17A-D) pour décroître dès l'apparition du plateau. Cho & Azam (1988) ont déjà montré que la proportion de protéines marquées par la thymidine tritiée augmente lorsque les cellules se carencent en azote. La thymidine (catabolisée) serait alors utilisée préférentiellement pour la synthèse protéique. L'augmentation du pourcentage de marquage dans l'ADN après l'apport d'extrait de levure (2mg.l⁻¹) en phase plateau, lors de l'étalonnage du 21-05-90 (fig. 2.17C) montre bien que cette décroissance est due à une carence des cellules. Ce phénomène explique le paradoxe qui existe entre une production de biomasse apparemment constante (incorporation de thymidine constante dans le TCA précipité) et une biomasse constante en l'absence de prédateurs au cours de la phase plateau des cultures d'étalonnages.

A partir de l'ensemble de ces résultats, en lagune Ebrié, il est aisé de remarquer que la mesure de la productivité bactérienne est surestimée d'un facteur 2.6 (soit 49.6/19.2) si l'on utilise des incorporations dans le milieu et des valeurs d'étalonnage obtenues par l'incorporation de thymidine dans le seul précipité TCA. Ce phénomène a également été observé dans le lac Léman (Torréton *et al.* en préparation) et pourrait donc être répandu dans divers écosystèmes. A l'opposé, Coveney & Wetzel (1988), en utilisant une extraction à l'acide perchlorique, déterminent une proportion plus faible dans les cultures. Il est donc vraisemblable que bien des facteurs de conversion publiés aient été biaisés par des proportions du marquage dans l'ADN différentes *in situ* et dans les cultures.

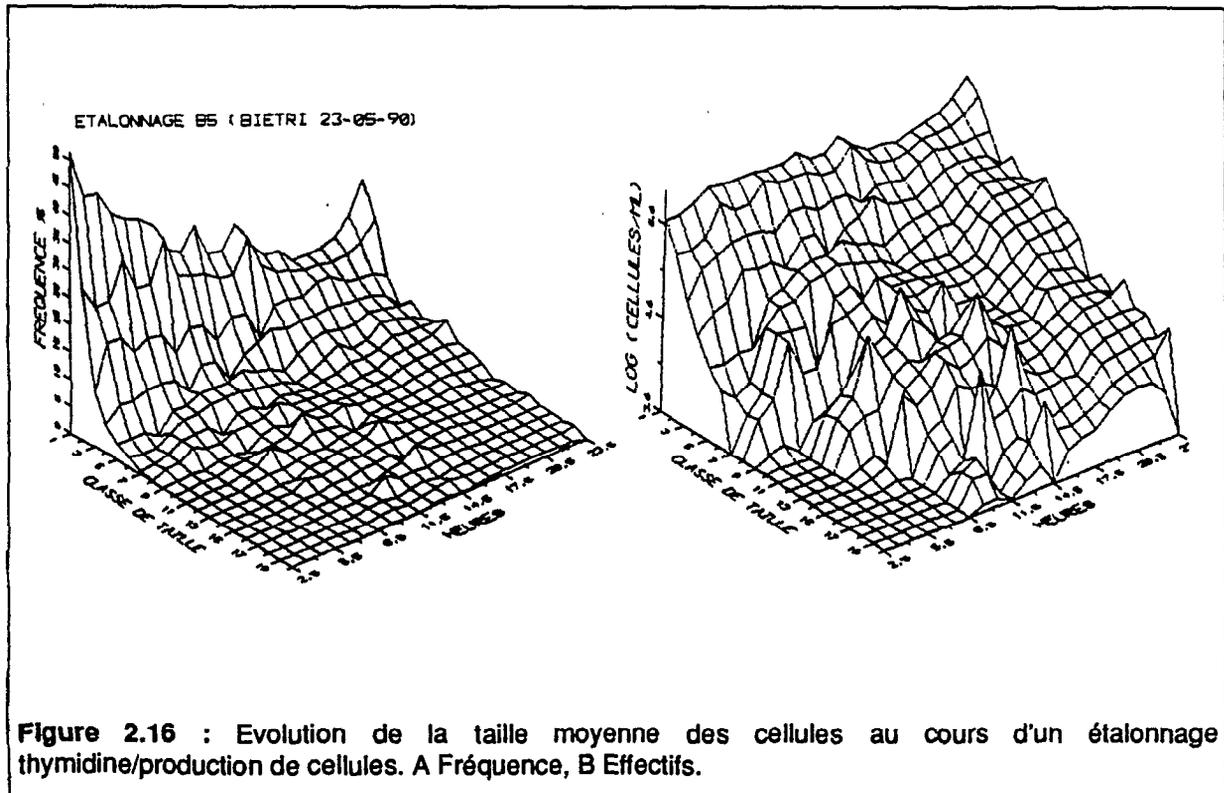
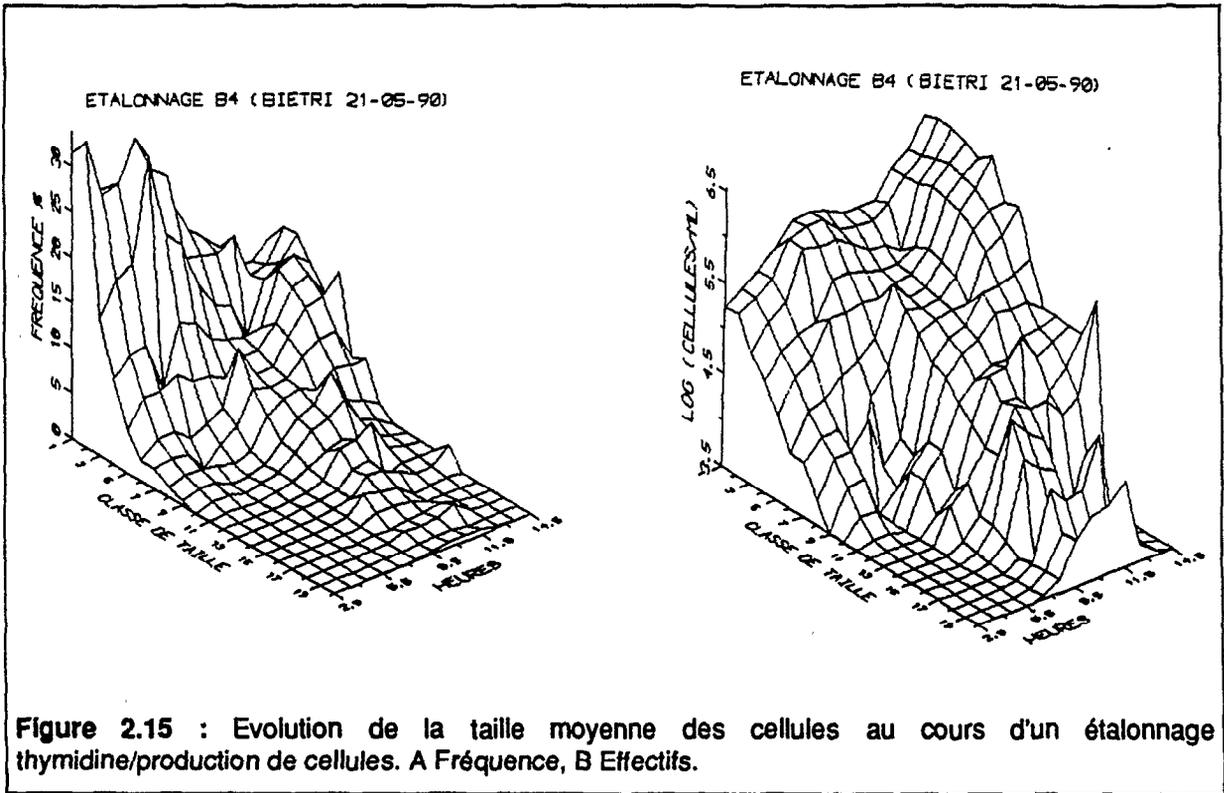
Si l'on admet que cette proportion du marquage dans l'ADN (moyenne 49.6%, $\sigma=3.8\%$, $n=12$, cf tab. 2.12) est la même au cours de toutes les phases exponentielles des étalonnages effectués en lagune, on obtient alors un facteur de conversion de $1.87/0.496 = 3.77 \cdot 10^{17} \mu\text{m}^3\text{mole}^{-1} \text{Tdr}$ dans l'ADN. Pour convertir directement l'incorporation dans le TCA en production de biomasse il faut utiliser le facteur $3.77 \times 0.192 = 0.72 \cdot 10^{17} \mu\text{m}^3\text{mole}^{-1} \text{Tdr}$ dans le TCA précipité.

En sommant les incertitudes de chacun des facteurs utilisés ($\pm 15.0\%$ sur le facteur de conversion, $\pm 5.2\%$ et $\pm 4.9\%$ pour les proportions du marquage dans l'ADN *in situ* et au cours des étalonnages) on peut estimer que ce facteur de conversion est précis à $\pm 25\%$ près.

Tableau 2.12 : Proportion du marquage ³H-Tdr dans l'ADN au cours des étalonnages.

ECH.	T	HEURE	TCA pmol l ⁻¹ h ⁻¹	ADN pmol l ⁻¹ h ⁻¹	ADN % TCA		MOYENNE Ecart-type (n)
B3	1	3.0	129	73	56.6		
B3	2	4.5	226	116	51.3	*	
B3	3	6.0	403	223	55.3	*	53.3 %
B3	4	7.5	674	374	55.5	*	2.8 %
B3	5	9.0	1124	698	62.1		(3)
B3	6	10.5	1829	1060	58.0		
B3	7	12.0	3317	1820	54.9		
B3	8	13.5	2287	991	43.3		
B3	9	15.0	2310	541	23.4		
B3	10	16.5	2342	539	23.0		
B3	11	24.0	1586	255	16.1		
A3	1	3.0	57	29	51.1	*	
A3	2	4.5	103	51	49.6	*	
A3	3	6.0	198	108	54.4	*	51.7 %
A3	4	7.5	434	235	54.2		2.5 %
A3	5	9.0	999	585	58.6		(3)
A3	6	10.5	1248	672	53.9		
A3	7	12.0	1601	796	49.7		
A3	8	13.5	2084	636	30.5		
A3	9	15.0	1910	470	24.6		
A3	10	16.5	1784	392	22.0		
A3	11	24.0	1394	156	11.2		
B4	0	2.5	125	57.8	46.2	*	
B4	1	4.0	277	128	46.2	*	
B4	2	5.5	619	287	46.4	*	46.3 %
B4	3	7.0	670	266	39.7		0.1 %
B4	4	8.5	1081	320	29.6		(3)
B4	5	10.0	999	244	24.4		
B4	6	11.5	2172	1416	65.2		
B4	7	13.0	2514	1416	56.3		
B4	8	14.3	2571	941	36.6		
B5	0	2.5	131	61	46.6	*	
B5	1	4.0	207	96	46.4	*	
B5	2	5.5	320	148	46.3	*	46.4 %
B5	3	7.0	486	167	34.4		0.2 %
B5	4	8.5	603	192	31.8		(3)
B5	5	10.0	651	176	27.0		
B5	6	11.5	645	135	20.9		
B5	7	14.0	710	132	18.6		
B5	8	23.0	617	55	8.9		
Tous les points :					Moyenne		49.6 %
					Intervalle de confiance		47.2-52.0%
					N		12

Les astérisques indiquent les points utilisés pour les étalonnages, la moyenne correspondante est reportée dans la colonne suivante. Echantillons : mêmes symboles qu'en Tab. 2.11



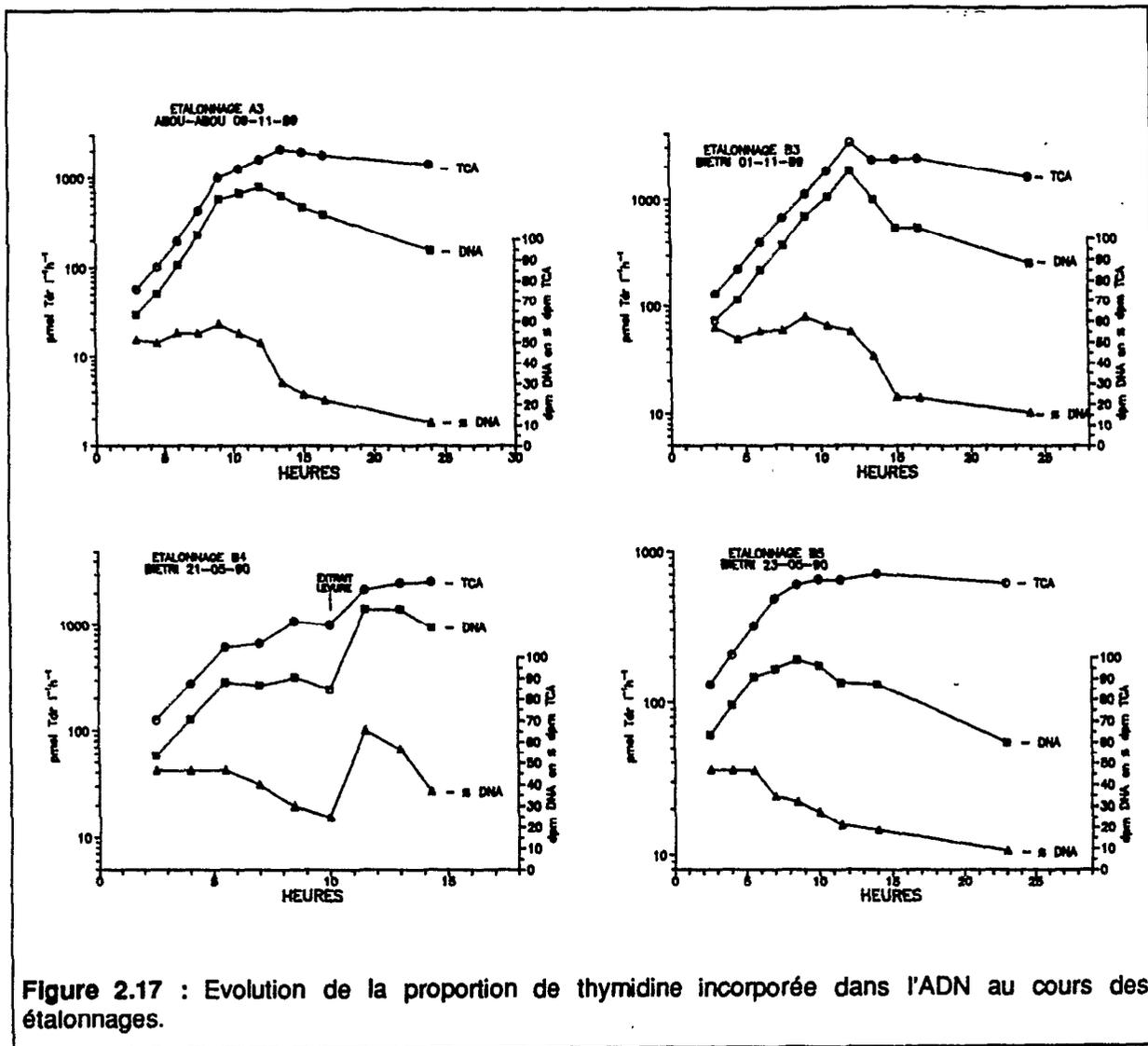


Figure 2.17 : Evolution de la proportion de thymidine incorporée dans l'ADN au cours des étalonnages.

a3. Discussion

Ce facteur de conversion, qui s'avère stable en lagune Ebrié, se situe dans les valeurs élevées de la littérature, bien qu'il soit hasardeux de comparer des facteurs empiriques obtenus avec des modes de calcul et surtout des méthodes de fractionnement du précipité TCA différents.

L'influence de certains facteurs sur les valeurs expérimentales du facteur de conversion a été discutée par quelques auteurs. Smits & Riemann (1988) ont noté une augmentation de celui-ci avec le taux de croissance de l'assemblage bactérien et concluent que l'uptake doit être limitant pour des temps de génération inférieurs à 20h. L'uptake de thymidine a été mesuré au cours des étalonnages A3 et B3. La quantité de radioactivité intracellulaire non TCA précipitable issue de la thymidine tritiée était toujours significativement supérieure à 0 (fig. 2.17A et B). Il n'a toutefois pas été possible de montrer qu'il s'agissait de thymidine et non de catabolites marqués. Toutefois, si l'incorporation de thymidine dans le TCA précipité était limitée par l'uptake, on obtiendrait vraisemblablement une limite de l'incorporation par cellule pour les valeurs les plus élevées du taux de croissance, ce qui ne semble pas être le cas pour les étalonnages réalisés en lagune (fig. 2.18). Ces arguments n'excluent pas évidemment que l'uptake soit limitant pour une fraction du peuplement en croissance. Cette hypothèse ne pourrait être vérifiée que par autoradiographie, la détermination de la dilution isotopique n'étant d'aucune utilité dans ce cas (Moriarty, 1988).

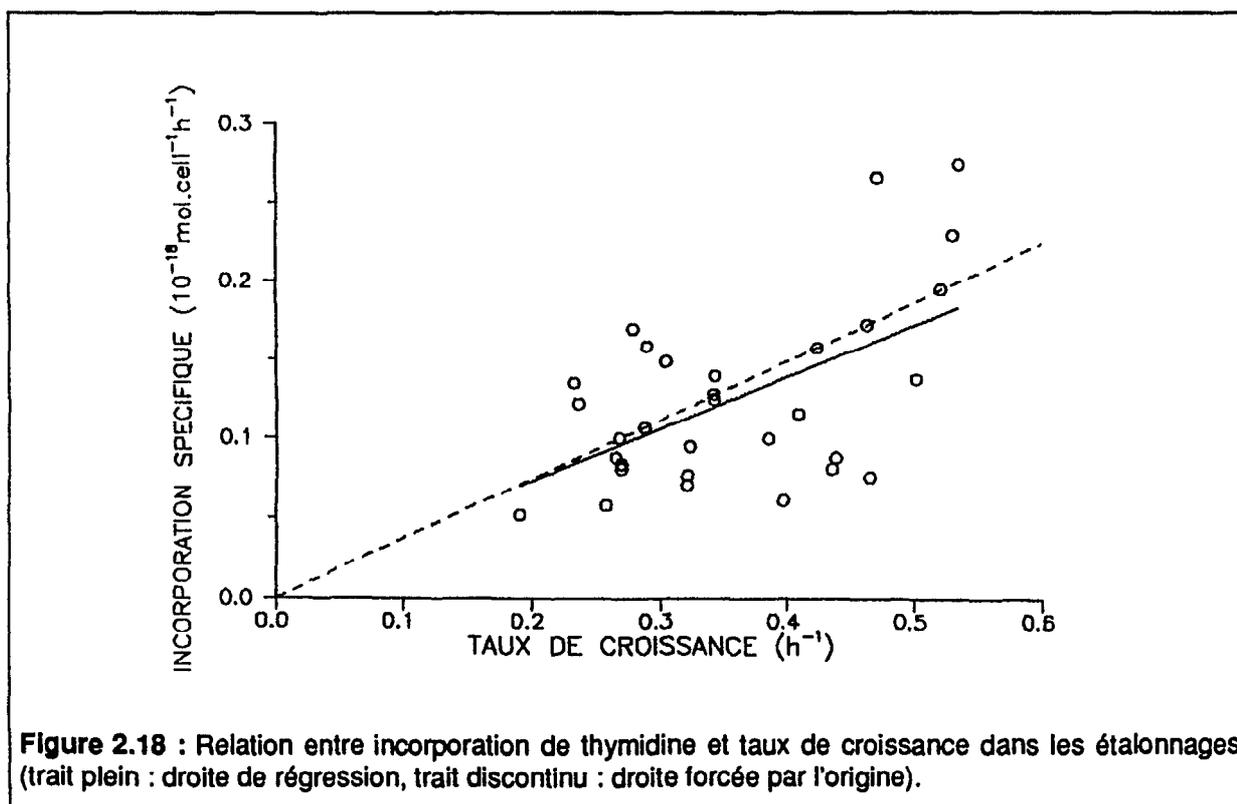


Figure 2.18 : Relation entre incorporation de thymidine et taux de croissance dans les étalonnages (trait plein : droite de régression, trait discontinu : droite forcée par l'origine).

Récemment, Bell (1990) a suggéré que la concentration optimale (saturante) de thymidine ne serait pas employée dans la plupart des expériences d'étalonnage. Il est vrai que la plupart des auteurs utilisent la même concentration de thymidine que l'optimum déterminé *in situ*. Ses arguments sont basés, d'une part, sur la plus grande variabilité et les plus fortes valeurs des FC obtenus à 5 nM qu'à des concentrations supérieures, d'autre part sur des observations directes. Le premier argument part du postulat qu'il existe un facteur de conversion unique pour des peuplements aussi différents que ceux présents dans des lacs eutrophes et dans l'océan oligotrophe, ce qui reste à démontrer. D'autre part, les FC comparés sont obtenus avec des méthodes de fractionnement du marquage assez différentes et Roberts & Wicks (1989) suggèrent que la proportion du marquage dans l'ADN pourrait expliquer des différences d'un facteur 10 dans l'estimation des FC. Les résultats des fractionnements enzymatiques obtenus au cours des étalonnages montrent que cet aspect souvent négligé est probablement une source de biais répandue.

L'optimum de concentration n'a été vérifié qu'une fois au cours de la phase exponentielle de l'étalonnage B4 (fig. 2.19). La concentration employée était saturante, alors que le taux de croissance était parmi les plus élevés observés. Une seule expérimentation est évidemment insuffisante pour affirmer que l'on se trouvait à concentration saturante au cours de tous les étalonnages. Toutefois, là encore, cet artefact, s'il existait dans ces expérimentations, serait probablement mis en évidence par une relation entre FC et taux de croissance. Cela ne semble pas être le cas en lagune Ebré (fig. 2.20). Smits & Riemann (1988) ont par ailleurs montré qu'une concentration de 15 nM était saturante, même avec des facteurs de conversion très élevés.

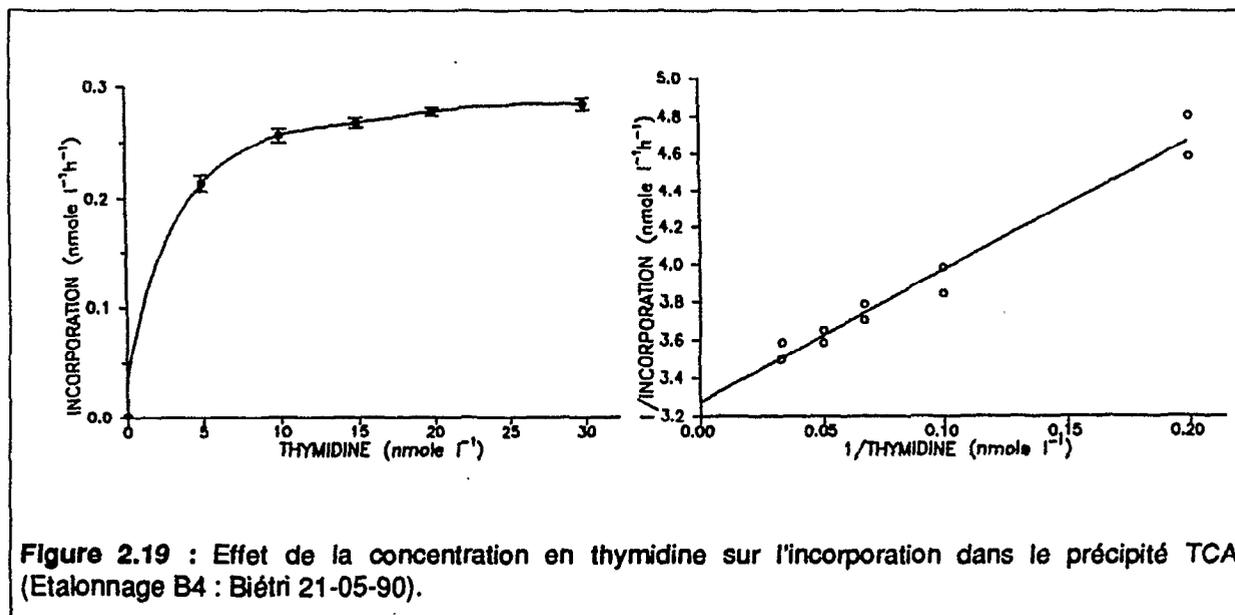


Figure 2.19 : Effet de la concentration en thymidine sur l'incorporation dans le précipité TCA (Etalonnage B4 : Biétri 21-05-90).

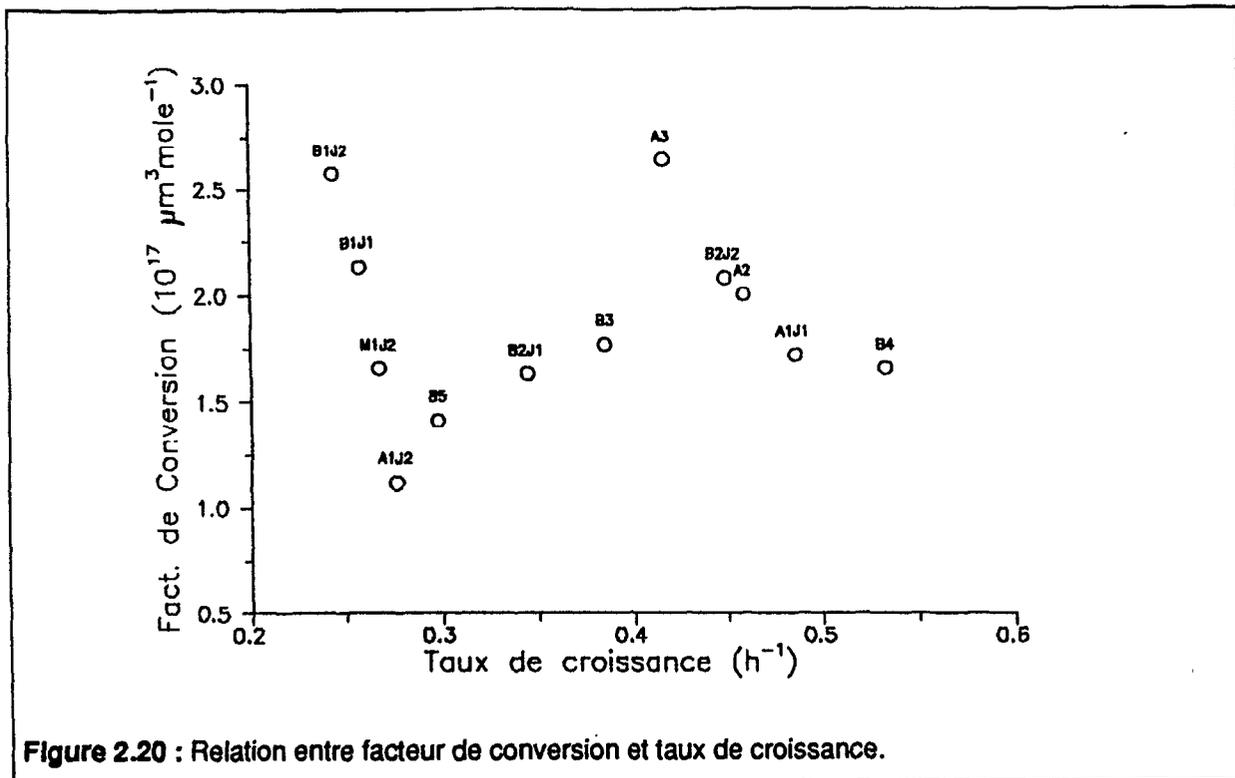


Figure 2.20 : Relation entre facteur de conversion et taux de croissance.

Enfin il n'est pas possible d'exclure la possibilité qu'une proportion significative de bactéries en croissance dans les cultures n'incorporent pas la thymidine (Pedros-Alio & Newell, 1989). Ce phénomène conduirait à l'obtention d'une valeur de conversion élevée et ne serait pas détectable par l'étude de la dilution isotopique.

a4. Conclusion

Bien qu'il soit difficile d'affirmer que le degré de participation de la thymidine tritiée ait été identique *in situ* et dans les cultures d'eau de lagune, la reproductibilité des facteurs de conversion déterminés expérimentalement aux différents sites et périodes d'étude, avec des taux de croissance différents, suggère que ces artefacts, s'ils existaient, seraient curieusement constants. La valeur moyenne obtenue ($3.77 \cdot 10^{17} \mu\text{m}^3 \text{mole}^{-1}$ Tdr dans l'ADN) a donc été utilisée pour convertir les valeurs d'incorporation de thymidine en production de carbone bactérien. La validité de ce facteur a, par ailleurs, été vérifiée par une approche indépendante développée dans le chapitre suivant.

b. Validation du facteur de conversion par la consommation d'oxygène

b1. Introduction

La consommation d'oxygène est probablement la meilleure méthode pour déterminer l'activité hétérotrophique bactérienne aérobie. L'activité d'uptake et de minéralisation d'un substrat ne mesure, en effet, qu'une partie de l'activité hétérotrophe totale. Des comparaisons effectuées *in situ* (Sepers *et al.* 1982) ont montré que l'uptake maximum d'amino-acides représentait au plus 10% de l'activité minéralisatrice déterminée par la consommation d'oxygène attribuée aux bactéries (50% du total). Des résultats comparables ont été obtenus, *in vitro*, sur des assemblages bactériens maintenus en chémostat (Sepers & van Es, 1979).

La mesure de la consommation du carbone organique dissous (COD) élimine le problème de la faible représentativité d'un ou d'un groupe de substrats. Toutefois la part facilement dégradable du COD est en général assez faible (15 à 40% en milieu limnique et estuarien, Servais, 1987) et la détermination précise de la fraction consommée exige de longues durées d'incubation (Servais, 1987). De plus, en chémostat, le COD total semble utilisé séquentiellement, les bactéries utilisant en premier lieu les molécules les plus facilement dégradables (Sondergaard *et al.* 1990). La fraction consommée *in situ* dépend donc à la fois du taux de croissance bactérien et de la vitesse de production du COD (Sondergaard *et al.* 1990). La détermination de l'activité organotrophe par l'évolution du COD exige donc des temps d'incubation du même ordre que le temps de génération bactérien, ce qui limite la précision de la mesure. En lagune Ebrié, les concentrations en COD (déterminées en 1977) varient entre 6000 et 18000 $\mu\text{gC l}^{-1}$ dont une forte proportion semble constituée de matériel réfractaire (Pagès et Lemasson, 1981) ce qui limiterait la précision de l'analyse de la fraction consommée. Enfin, il convient de rappeler qu'une mise en doute de la fiabilité des dosages classiques du COD a été formulée récemment (Sugimura et Suzuki, 1988).

Il semble donc préférable de relier la consommation bactérienne d'oxygène à la mesure de la productivité bactérienne afin d'obtenir une comparaison indépendante. Malheureusement c'est une méthode moins sensible que la mesure de l'incorporation de radiotraceurs, un inconvénient toutefois minimisé en milieu eutrophe ou des valeurs importantes peuvent être mesurées.

L'activité respiratoire n'est toutefois pas spécifique des bactéries. Différents auteurs ont attribué une partie de l'activité respiratoire totale aux bactéries hétérotrophes en préfiltrant des échantillons d'eau et en comparant les consommations d'oxygène dans les fractions tamisées et totales (Williams, 1981 ; Sepers *et al.* 1982 ; Bell & Kuparinen, 1984 ; Laanbroek & Verplanke, 1986a, 1986b ; Griffith *et al.* 1990 ; Schwarter *et al.* 1988 ; Sand-Jensen *et al.* 1990). Dans tous les cas, une part importante (30 à 100%) de la consommation d'oxygène totale *in situ* était retrouvée dans l'eau tamisée sur membranes (de porosité 1 à 3 μm) donc attribuable au picoplancton constitué pour l'essentiel de bactéries.

Toutefois, les artefacts résultant d'une séparation avant incubation sont toujours possibles, le plus classique étant l'enrichissement entraîné par la rupture des cellules les plus fragiles lors du tamisage (Ferguson *et al.* 1984). Plus récemment, Hopkinson *et al.* (1989) ont montré une autre source d'erreur entraînée par les tamisages. Les consommations d'oxygène dans la fraction inférieure

à 1 µm étaient systématiquement supérieures à la consommation totale. Des dénombrements bactériens et des dosages de NH₄⁺ et amines primaires ont montré que ce phénomène n'était pas dû à une croissance bactérienne stimulée par l'éventuel relarguage de nutriments par le tamisage. Au contraire, dans leur milieu, les bactéries séparées des flagellés par filtration se carenaient en azote, relargué par ces derniers, entraînant une forte chute de leur rendement de croissance et une augmentation consécutive de leur activité respiratoire.

b2. Postulats

Pour éviter ces artefacts, seule l'activité respiratoire totale a été déterminée en lagune Ebré. La validité du facteur de conversion thymidine/production de carbone bactérien a donc été testée en essayant d'attribuer empiriquement une part de l'activité respiratoire totale aux bactéries hétérotrophes.

Pour déterminer cette activité respiratoire on a supposé :

1- Que l'activité respiratoire totale mesurée est la somme des activités du phytoplancton et du bactérioplancton.

2- Que le rendement de croissance bactérien est constant dans les sites étudiés (donc qu'il existe une relation constante entre respiration bactérienne et incorporation de thymidine) et que l'essentiel de l'activité minéralisatrice est aérobie.

3- Que la respiration phytoplanctonique était constante par unité de biomasse (donc qu'il existe une relation constante entre respiration phytoplanctonique et pigments photosynthétiques si l'on admet que ceux-ci sont proportionnels à la biomasse phytoplanctonique).

Ces trois postulats peuvent être considérés comme valables en première approximation.

1- L'activité respiratoire totale mesurée peut être considérée comme la somme des activités respiratoires du phytoplancton et du bactérioplancton. En effet, d'une part, le méso-zooplancton n'est pratiquement pas prélevé avec les bouteilles utilisées (Pagano *comm. pers.*), d'autre part, il est virtuellement absent de la colonne d'eau pendant la journée (Pagano & Saint-Jean, 1988, voir aussi chap.3, Cycles nyctéméraux). L'activité respiratoire du nanoplancton hétérotrophe est vraisemblablement prise en compte dans la respiration attribuée aux bactéries si l'on suppose que celui-ci exerce son activité sur les bactéries comme le laisse supposer la taille des organismes phytoplanctoniques (96% et 53% de la chlorophylle a est retenue sur membranes de porosité respectives 1 µm et 3 µm, moyenne sur les 3 sites étudiés, cf tab.2.3). Dans ce cas si on lui attribue une efficacité de croissance de l'ordre de 50% sur les bactéries, la contribution bactérienne sera légèrement surestimée. Cette hypothèse est discutée plus loin.

2- Le rendement de croissance bactérien tend probablement vers une valeur moyenne si l'on admet que la relation entre les bactéries et leurs sources nutritives est la même aux différents sites et époques étudiés.

3- La respiration phytoplanctonique est constante par unité de biomasse, l'indicateur de biomasse utilisé étant la concentration en chlorophylle a. Quelques données sont disponibles sur ce sujet. De plus, on admet généralement que la respiration phytoplanctonique représente 10 à 40% de

la production brute (Beardall & Raven, 1990), ce qui peut fournir une autre base de vérification. Il semble toutefois que la respiration phytoplanctonique à l'obscurité puisse être fortement influencée par l'histoire lumineuse précédant la mise à l'obscurité nécessaire à la mesure (Stone & Ganf, 1981 ; Verity, 1982). Cette hypothèse a été testée sur les données obtenues lors de cette étude.

b3. Résultats - discussion

b3.1 Analyse statistique

Les consommations d'oxygène déterminées (cf chap.2 méthodes) en sub-surface varient de 20 à 128 $\mu\text{gO}_2 \text{ l}^{-1}\text{h}^{-1}$ à Abou-Abou (moyenne 53), 127 à 371 $\mu\text{gO}_2 \text{ l}^{-1}\text{h}^{-1}$ à Biétri (moyenne 218) et 19 à 83 $\mu\text{gO}_2 \text{ l}^{-1}\text{h}^{-1}$ à Mopoyem (moyenne 61). Ces fortes valeurs, en accord avec le caractère eutrophe de la lagune, sont similaires à celles reportées par Carmouze & Caumette (1985) sur les mêmes sites.

L'attribution d'une partie de l'activité totale au phytoplancton et aux bactéries a été tentée en utilisant une régression multiple pas à pas en utilisant les variables explicatives suivantes (voir Tableau 2.13) :

- Chlorophylle a
- Phéopigments
- Somme des pigments
- Incorporation de thymidine
- Energie lumineuse reçue par l'échantillon au moment du prélèvement ($\mu\text{E m}^{-2}$)
- Production primaire au ^{14}C
- Production primaire à l'oxygène

Seuls ont été exclus les points de nuit où le zooplancton abondant pouvait contribuer à la respiration totale (lors des trois derniers cycles).

Tableau 2.13 : Régression pas à pas pour expliquer la variable respiration					
	Variables incorporées au modèle	Coefficient	Variables non incorporées	Corrélation Partielle	F
ETAPE 0 R ² = 0.000 ddl = 147			Chl. <u>a</u>	0.820	298.8
			Phéo.	0.572	70.9
			Pigments	0.812	283.3
			Thymidine	0.854	391.7
			Lumière	0.141	3.0
			Prod. ¹⁴ C	0.276	12.0
			Prod. O ₂	0.396	27.2
ETAPE 1 R ² = 0.728 ddl = 146	Thymidine	95.2	Chl. <u>a</u>	0.517	52.8
			Phéo.	0.173	4.5
			Pigments	0.478	42.9
			Lumière	0.053	0.4
			Prod. ¹⁴ C	0.119	2.1
			Prod. O ₂	0.103	1.6
ETAPE 2 R ² = 0.801 ddl = 145	Thymidine	60.9	Phéo.	0.024	0.1
	Chl. <u>a</u>	1.15	Pigments	0.024	0.1
			Lumière	0.071	0.7
			Prod. ¹⁴ C	0.033	0.2
			Prod. O ₂	0.108	1.7
MODELE FINAL		R ² = 0.801	n = 148		
Variable	Coefficient	Erreur Standard	t	P	
Thymidine	60.9	6.3	9.7	0.000	
Chl. <u>a</u>	1.15	0.16	7.3	0.000	
Constante	-2.72	5.6	-0.5	0.631	
MODELE FINAL FORCE PAR L'ORIGINE		R ² = 0.927	n = 148		
Variable	Coefficient	Erreur Standard	t	P	
Thymidine	60.0	6.0	10.0	0.000	
Chl. <u>a</u>	1.13	0.15	7.5	0.000	

L'analyse montre que 80% de la variance de la consommation d'oxygène peut être expliquée à l'aide de la concentration en chlorophylle a et de l'activité d'incorporation de thymidine. Toutes les autres variables explicatives proposées ont été rejetées. L'exclusion de l'énergie lumineuse reçue par les échantillons au moment du prélèvement montre que l'histoire lumineuse du phytoplancton ne semble pas avoir eu une influence déterminante sur son activité respiratoire dans nos conditions de mesure.

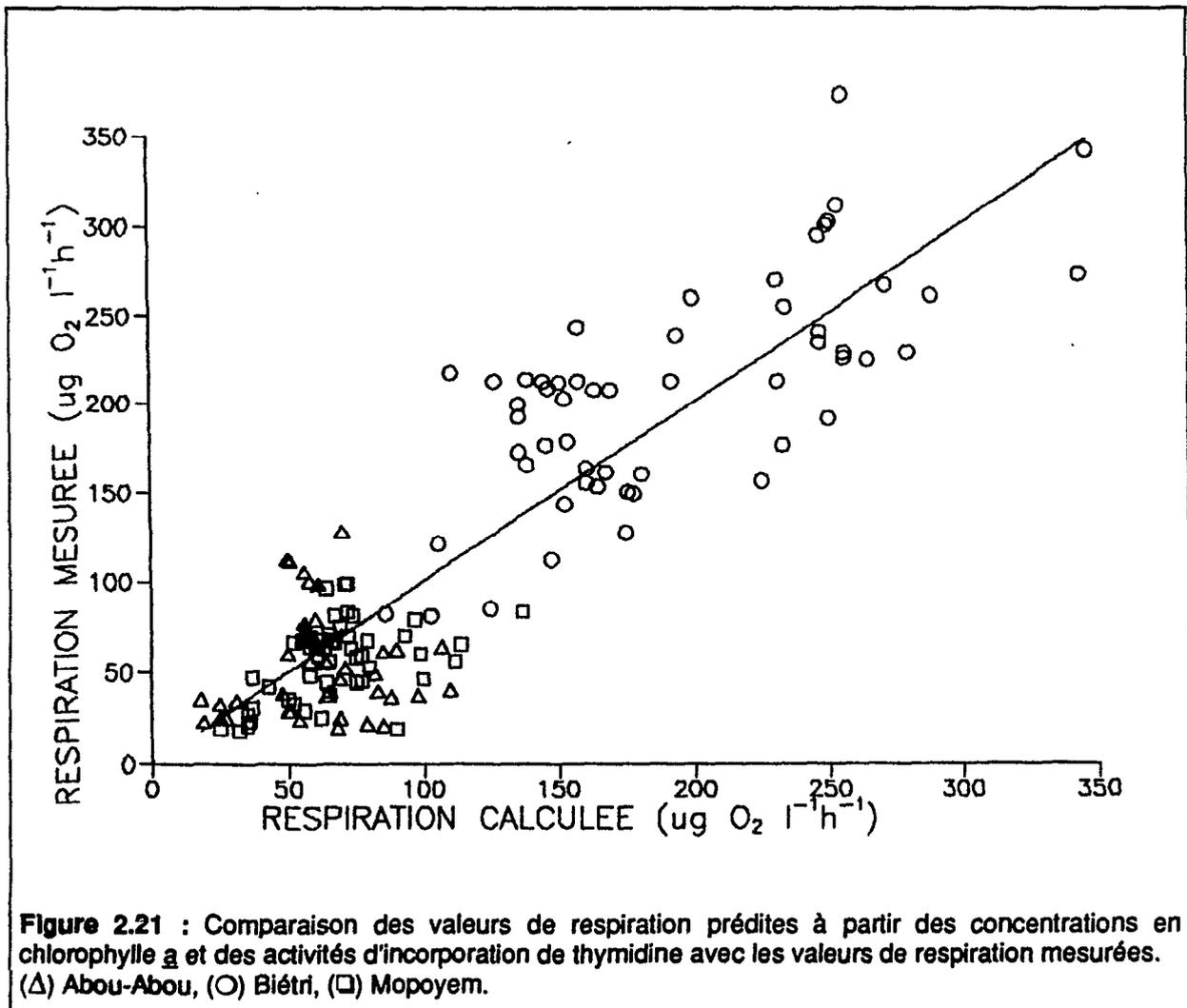
L'ordonnée à l'origine n'étant pas significativement différente de zéro ($P=0,63$), la régression a été recommencée en forçant celle-ci par l'origine.

L'équation finale est $\text{Resp} = 1.13 (\pm 0.30) \text{ Chl.}_a + 60.0 (\pm 11.8) \text{ Thym}$ ($n=148$)

Avec : Resp, respiration en $\mu\text{gO}_2 \text{ h}^{-1}$; Chlorophylle a en μg ; Thym en nmol h^{-1} dans le TCA précipitable. Les valeurs entre parenthèses représentent les limites de l'intervalle de confiance pour $\alpha=0.05$.

L'ajustement de cette équation avec les valeurs mesurées de respiration totale est représenté en figure 2.21 pour les valeurs individuelles et sur le tableau 2.14 pour les moyennes journalières au cours des neuf cycles nyctéméraux. L'ajustement est tel que 77% des valeurs estimées par le modèle se situent dans l'intervalle + ou - 50% des valeurs mesurées. Avec une approche semblable, Jensen *et al.* (1990) obtiennent 76 à 85% et considèrent que, compte tenu des erreurs de mesure et d'analyse statistique cumulées ainsi que de la variabilité possible des hypothèses de départ, un tel ajustement peut être considéré comme très satisfaisant.

Toutefois, le modèle ne peut être considéré comme valable que si les paramètres obtenus présentent une certaine vraisemblance au regard des données disponibles.



b3.2 Respiration phytoplanctonique

Le coefficient respiratoire attribué au phytoplancton de $1.13 (\pm 0.30) \mu\text{gO}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{Chl.}_a \text{ h}^{-1}$ est très proche de la valeur $0,76 (\pm 0,18) \mu\text{gO}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{Chl.}_a \text{ h}^{-1}$ obtenue par Jensen *et al.* (1990) avec la même analyse sur des communautés naturelles en milieu estuarien eutrophe.

Ces coefficients sont en accord avec des données obtenues sur des cultures algales en laboratoire. Relexans *et al.* (1984) ont mesuré des respirations de 0,5 à 1,6 $\mu\text{gO}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{Chl.}_a \text{ h}^{-1}$ (à 20°C) (moyenne 1,06) pour 5 espèces d'algues d'eau douce. Harris (1978) rapporte des valeurs comprises entre 0,1 et 1 $\mu\text{gO}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{Chl.}_a \text{ h}^{-1}$ et Langdon (1988) cite des valeurs de respiration de maintenance allant de 0,064 à 2,176 $\mu\text{gO}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{Chl.}_a \text{ h}^{-1}$ pour 8 espèces d'algues marines. La respiration phytoplanctonique semble être la somme de deux composantes, la respiration de maintenance, pouvant varier selon les espèces, et la respiration de croissance qui serait proportionnelle au taux de croissance (Langdon, 1988). La composition spécifique et le taux de croissance de l'assemblage phytoplanctonique influent donc probablement sur le rapport respiration/chlorophylle et sont donc une source importante de variabilité entre respirations prédite et mesurée.

Par ailleurs, en utilisant une approche similaire pour estimer la respiration du phytoplancton de la lagune Ebrié, Dufour (1984) reporte trois équations reliant respiration totale et pigments photosynthétiques :

- en régions fermées (régions V, VI et Aghien, cf. fig 1.1)

$$\text{Resp} = 1.44 \text{ Pigments} + 14.66, R^2 = 0.49, n = 15,$$

- en régions ouvertes "naturelles" (régions II, III, IV et Potou)

$$\text{Resp} = 1.45 \text{ Pigments} + 18.77, R^2 = 0.22, n = 72,$$

- en régions ouvertes urbaines

$$\text{Resp} = 1.43 \text{ Pigments} + 39.17, R^2 = 0.50, n = 66,$$

Avec : Resp, respiration en $\mu\text{gO}_2 \text{ h}^{-1}$; Pigments (Chlorophylle *a* active et dégradée) en μg

Les fortes ordonnées à l'origine représentent la respiration non phytoplanctonique apparaissant effectivement 2 à 3 fois plus élevées en zone urbaine qu'aux autres sites (comme le rapport des activités bactériennes obtenues ici).

En employant les mêmes paramètres sur la totalité des mesures effectuées au cours de cette étude on obtient dans ce cas un équation comparable à celle obtenue par Dufour (1984) :

$$\text{Resp} = 1.79 (\pm 0.21) \text{ Pigments} + 18.1 (\pm 13.6) R^2 = 0.658$$

Tableau 2.14 : Respiration attribuée aux microflores bactériennes et phytoplanctoniques au cours des cycles

CYCLE	resp. Chla	resp. Bact	resp. Calc	resp. Mes	test diff.	Prod. nette	resp. 24h	Prod. brute	resp. phyto.	%resp. phyto.	I ₀
A1.1	23 4 9	33 7 9	56 10 9	48 22 9	0.66 NS	4113	1160	5021	542	11	6072
A1.2	18 3 8	32 6 8	50 4 8	63 19 8	0.052 NS	2691	1518	3691	434	12	5851
A2	26 5 7	47 10 7	73 11 7	45 14 7	0.005	1429	1080	2107	625	30	6116
A3	12 5 12	14 9 12	25 7 12	28 6 12	0.31 NS	977	666	1402	281	20	5466
B1.1	71 12 9	77 24 9	148 30 9	202 41 9	0.31 NS	5156	4843	8107	1698	21	4293
B1.2	51 9 8	76 23 8	127 21 8	196 43 8	0.003	4988	4695	7849	1235	16	3990
B2.1	94 20 9	112 12 9	206 14 9	188 29 9	0.07 NS	8040	4328	10918	2257	21	5744
B2.2	85 17 8	120 13 8	205 15 8	162 32 8	0.007	6913	3888	9478	2033	21	6961
B3	83 10 6	51 10 6	134 16 6	164 32 5	0.14 NS	3836	3941	6213	2002	32	5881
M1.1	34 2 9	24 5 9	58 6 9	68 8 9	0.013	1588	1627	2569	808	31	2940
M1.2	30 3 6	22 4 6	52 5 6	60 25 6	0.065 NS	1842	1448	2746	729	27	6789
M2	45 7 7	21 5 7	66 7 7	56 20 7	0.37 NS	1525	1334	2345	1090	46	7153
M3	15 3 4	20 7 4	34 5 4	39 7 4	0.38 NS	1484	924	2082	348	17	5019
									MOYENNE	23	5560
									ECART-TYPE	10	1226
									N	13	13

resp. Chla ; resp. Bact, resp. calc. : Respirations respectivement attribuées au phytoplancton, aux bactéries et à la somme des 2 ($\mu\text{gO}_2 \text{ l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ; resp. Mes.: Respiration mesurée ($\mu\text{gO}_2 \text{ l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ; Test diff. : Probabilité de la différence non nulle entre les moyennes calculées et mesurées (Test non paramétrique de Mann-Withney) ; Prod. nette, Prod. brute : Productions nette et brute d'oxygène ($\mu\text{gO}_2 \text{ l}^{-1} \text{ jour}^{-1}$). prod. brute = (prod. nette + 12 x resp. Mes) x 1.07 (7% en moyenne de photorespiration) ; resp. phyto et % resp. phyto : Respiration phytoplanctonique extrapolée sur 24h (en $\mu\text{gO}_2 \text{ l}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ et en % de la production brute) ; I₀ : Lumière incidente en Wh m^{-2}

Le tableau 2.14 montre que la respiration ainsi attribuée au phytoplancton représenterait 10 à 48% (moyenne 22%) de la production brute déterminée par l'oxygène à 40 cm de profondeur, dans la gamme des valeurs généralement reportées (cf. revue de Beardall & Raven, 1990). L'implication de ce coefficient sur la production primaire nette en lagune Ebré sera discutée plus loin.

b3.3 Respiration bactérienne validation du facteur de conversion

Le facteur 60.0 μgO_2 respirés par mole de thymidine incorporée dans le matériel TCA précipitable devient $60,0 / 0,196 = 306 \mu\text{gO}_2$ respirés par mole de thymidine incorporée dans l'ADN (en moyenne 19,6% de la radioactivité thymidine acido-précipitable est retrouvée dans l'ADN ; voir chap.2, extraction de l'ADN). Avec un quotient respiratoire de 0,85 (Bell & Kuparinen, 1984), on obtient $306 \times 0,85 / 32 \times 12 = 98 \mu\text{gC}$ (limites pour $\alpha=0.05$: 78 à 117) respirés par les bactéries pour une production correspondant à 1 nmole de thymidine incorporée dans l'ADN.

La valeur moyenne du facteur de conversion en lagune est de $3,77 \cdot 10^{17} \mu\text{m}^3 \text{ mole}^{-1}$ (dans l'ADN, cf chap.2, étalonnage : limites pour $\alpha=0.05$: 3.21 à 4.33). En utilisant le rapport $2 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$ proposé par Simon & Azam (1989) (pour un volume moyen de $0,1 \mu\text{m}^3$ par cellule) on obtient $75 \mu\text{gC nmole}^{-1}$ (limites pour $\alpha=0.05$: 64 à 87).

Si l'on considère que la contribution respiratoire du nanoplancton hétérotrophe est nulle on obtient un rendement de $75/(98+75) = 43\%$. Cette valeur est comprise entre 36% et 53% si l'on utilise les bornes de l'intervalle de confiance à $\alpha=0.05$ pour la respiration et la production. Cette efficacité de croissance est très proche de la valeur 42% déterminée par Jensen *et al.* (1990) avec la même analyse et un facteur de conversion différent.

b3.4 Biais créés par l'activité du nanoplancton hétérotrophe

Afin d'apprécier dans quelle mesure la contribution du nanoplancton hétérotrophe peut influencer la valeur de l'efficacité de croissance bactérienne, on peut effectuer le calcul suivant :

En posant :

RT : respiration totale du pico et nano-plancton hétérotrophe (bactéries et nanoplancton hétérotrophe)

Rb : respiration bactérienne

Rn : respiration du nanoplancton hétérotrophe

Pb : production bactérienne

Pn : production du nanoplancton hétérotrophe

Eb : efficacité de croissance bactérienne

En : efficacité de croissance du nanoplancton hétérotrophe

On peut écrire :

$$(1) RT = Rb + Rn$$

$$(2) Eb = Pb/(Pb + Rb)$$

$$(3) En = Pn/(Pn + Rn)$$

Et si l'on suppose que la totalité de la production bactérienne est consommée par le nanoplancton hétérotrophe, on a alors : (4) $Pn + Rn = Pb$

En recombinaison des équations (1) à (4) on obtient : $Eb = Pb/(RT + En \cdot Pb)$

En utilisant les valeurs correspondant à 1 nmole de thymidine incorporée dans l'ADN soit $RT = 98 \mu\text{gC}$ et $Pb = 75 \mu\text{gC}$ on obtient des efficacités de croissance bactérienne comprises entre 56 et 73% pour des efficacités de croissance du nanoplancton hétérotrophe allant de 80 à 20% (Fig. 2.22).

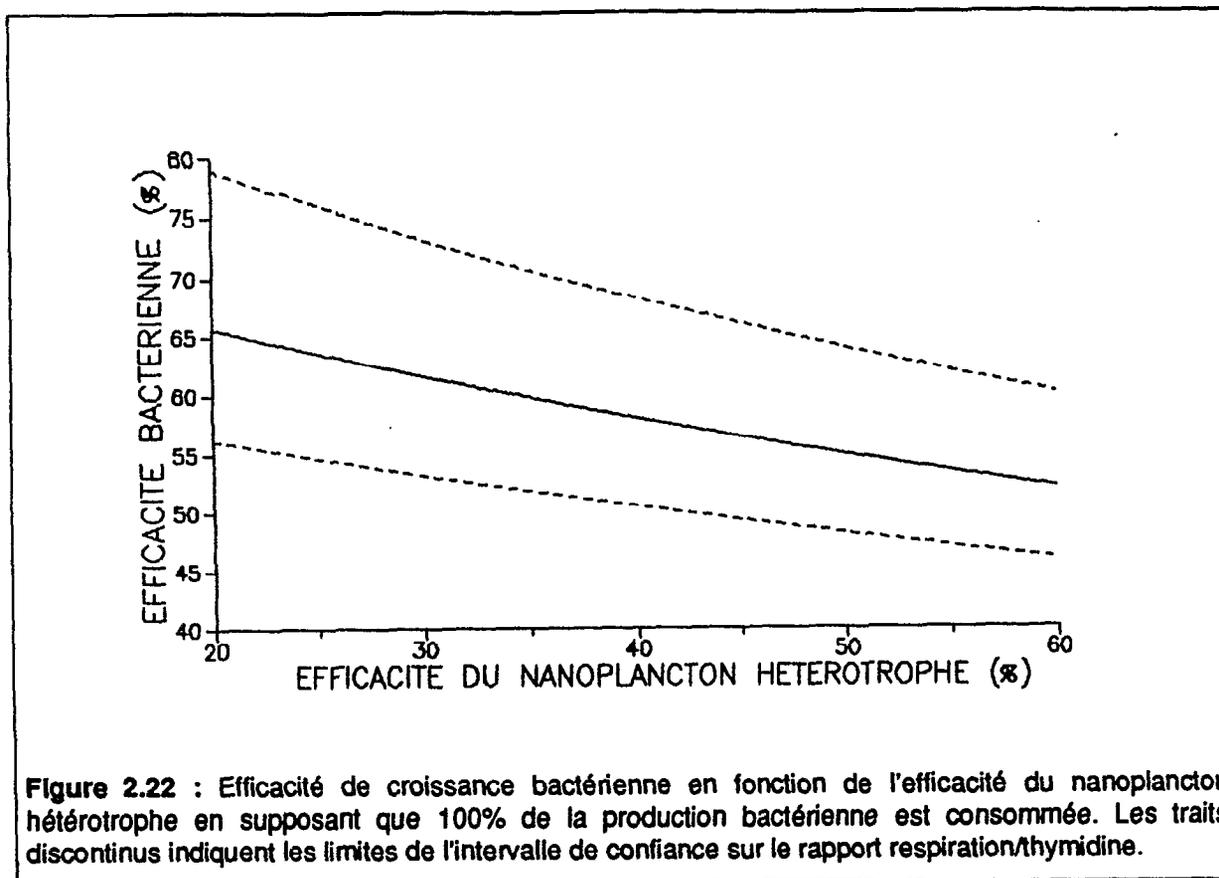


Figure 2.22 : Efficacité de croissance bactérienne en fonction de l'efficacité du nanoplancton hétérotrophe en supposant que 100% de la production bactérienne est consommée. Les traits discontinus indiquent les limites de l'intervalle de confiance sur le rapport respiration/thymidine.

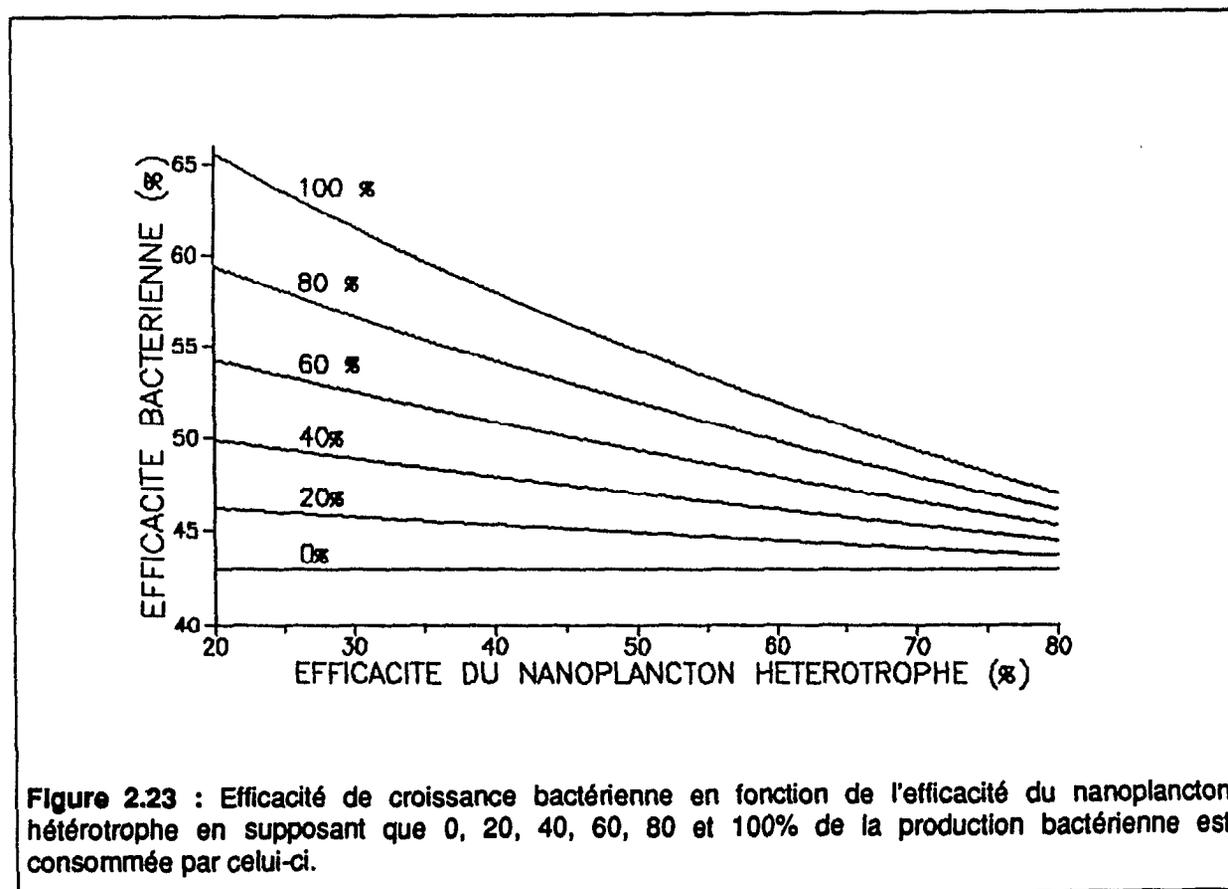


Figure 2.23 : Efficacité de croissance bactérienne en fonction de l'efficacité du nanoplancton hétérotrophe en supposant que 0, 20, 40, 60, 80 et 100% de la production bactérienne est consommée par celui-ci.

De la même manière, si l'on suppose que le nanoplancton hétérotrophe ne contrôle pas la totalité de la production bactérienne (pertes par sédimentation des bactéries fixées, lyse d'origine virale...), l'expression (4) devient :

$$(4') P_n + R_n = f.P_b$$

Avec f , proportion de la production bactérienne consommée par le nanoplancton hétérotrophe.

Après réarrangement des expressions (1), (2), (3) et (4') on obtient :

$$E_b = P_b / (R_T + P_b(f.E_n + 1 - f))$$

La figure 2.23 représente l'évolution de l'efficacité de croissance bactérienne en fonction de l'efficacité de croissance du nanoplancton hétérotrophe en supposant que 0 à 100% de la production bactérienne est consommée par celui-ci.

La gamme des valeurs possibles est, comme on pouvait s'y attendre, d'autant moins étendue et d'autant plus faible que la fraction bactérienne consommée est faible.

b4. Conclusion

On le voit, quelle que soit la contribution du nanoplancton hétérotrophe à cette activité respiratoire calculée, les valeurs de l'efficacité de croissance bactérienne obtenues avec le facteur de conversion empirique restent compatibles avec les valeurs publiées. Celles-ci, il est vrai, varient dans de très larges proportions (voir revue par Pomeroy & Wiebe, 1988).

Signalons qu'avec une valeur de 8,5 μgC synthétisés par mole de thymidine incorporée dans l'ADN, calculée en supposant un degré de participation de 100% de la thymidine exogène, un rapport C/ADN de 6,7 mg/mg (Simon & Azam, 1990), un GC% de 50 et un poids moléculaire moyen de 315 par nucléotide incorporé dans l'ADN (Moriarty, 1988), on obtient une efficacité maximale de 10,5% (avec 100% de la production bactérienne consommée par le nanoplancton hétérotrophe à 20% d'efficacité de croissance et la limite inférieure de 79 μgC respirés par nmole). Cette dernière valeur se situerait parmi les plus faibles reportées dans la littérature et serait plutôt typique d'une croissance sur des substrats réfractaires (Pomeroy & Wiebe, 1988).

On peut donc considérer que le facteur de conversion empirique ($3,77 \cdot 10^{17} \mu\text{m}^3$ (ou $75 \mu\text{gC}$) mole^{-1} dans l'ADN) obtenu en lagune est validé par cette approche indépendante. Cette valeur a donc été utilisée au cours de ce travail pour convertir incorporation dans l'ADN en production de biomasse bactérienne.

Les valeurs probables du rendement de croissance bactérien représentées en figure 2.23 dépendent largement des facteurs utilisés. Toutefois le facteur $2 \cdot 10^{-13} \text{gC} \mu\text{m}^{-3}$ est compatible avec les bilans de C_p par classes de taille effectués en lagune (chap.2, biomasse). Le quotient respiratoire 0,85 arbitrairement choisi influe plus faiblement sur l'efficacité de croissance. Aucune mesure directe de ce quotient ne semble avoir été effectuée, les QR employés varient entre 0,77 (Sepers, 1981) et 1 (Bölter, 1982) selon l'état de réduction du matériel respiré.

Au cours de l'étude des cycles journaliers d'activité bactérienne où cette validation a été effectuée, la prédation semble être responsable d'environ 80% de la disparition de la biomasse bactérienne produite. Si l'on attribue une efficacité moyenne de 32% au nanoplancton hétérotrophe bactérivore (revue de Caron & Goldman, 1987) on obtient une efficacité de croissance bactérienne de 54% (entre 43 et 70%, limites obtenues avec les bornes des intervalles de confiance pour Pb et RT).

L'efficacité de croissance relativement élevée, qui doit être distinguée de l'efficacité d'utilisation d'un substrat simple, tend à montrer que la production bactérienne est plutôt limitée par les exportations que par la disponibilité nutritive aux sites étudiés.

IV. CONCLUSION

La détermination de la productivité bactérienne au moyen de l'incorporation de thymidine est maintenant très largement employée en écologie microbienne aquatique. Cet engouement est justifié, d'une part, par son respect satisfaisant des critères d'applicabilité d'une bonne mesure, mentionnés au début de ce chapitre, d'autre part, par sa mise en oeuvre très simple en routine. Néanmoins, cette méthode, qui se veut quantitative, nécessite, pour cela, un effort méthodologique annexe assez lourd pour obtenir une estimation fiable de la productivité bactérienne. Ce travail annexe ne doit pas être négligé car, dans l'état actuel des connaissances, il n'est pas possible d'établir *a priori* des conditions types d'utilisation et d'interprétation.

Cette étude n'a pas la prétention d'apporter des résultats définitifs sur l'emploi et l'interprétation de l'incorporation de thymidine en lagune Ebrié, bien que cette technique ne semble pas présenter d'inconvénient majeur dans l'état actuel de nos connaissances sur le site. Quoi qu'il en soit, les résultats obtenus ici montrent de manière évidente que les erreurs potentielles sont nombreuses et peuvent être lourdes de conséquences sur l'interprétation des résultats. L'association de cette méthode à des mesures indépendantes, de plus en plus utilisée, montre néanmoins qu'elle représente probablement l'une des meilleures techniques disponibles actuellement.

C - DETERMINATION DE LA PREDATION SUR LES BACTERIES

I. CONTEXTE

Alors que les taux de croissance des communautés bactériennes planctoniques sont généralement élevés (de l'ordre de 1 jour⁻¹), l'abondance bactérienne ne montre que de faibles fluctuations, suggérant que croissance et mortalité bactérienne sont étroitement couplées (Pace, 1988).

On considère que la mortalité du bactérioplancton peut avoir quatre origines :

- la mortalité spontanée suivie de lyse (Servais *et al.* 1985)
- l'ingestion par des prédateurs (flagellés et ciliés hétérotrophes, micro-zooplancton...)
- la lyse d'origine virale (Torrella & Morita, 1979)
- la lyse d'origine bactérienne, notamment par le genre *Bdellovibrio* (Shilo, 1984)

Ces différentes causes de mortalité n'ont évidemment pas la même implication écologique. La consommation des bactéries par les prédateurs conditionne, en effet, l'efficacité de transfert de leur biomasse vers les niveaux supérieurs de la chaîne trophique.

La prédation par les flagellés hétérotrophes est en général considérée comme représentant la principale source de mortalité bactérienne dans la plupart des milieux étudiés (Pace, 1988).

La plupart des études portant sur la mortalité bactérienne par parasitisme font apparaître des concentrations seuil, rarement atteintes hors des milieux eutrophes et dystrophes, au dessous desquelles les bactéries ou virus bactériophages ne peuvent contrôler la biomasse bactérienne (Shilo, 1984, Wiggins & Alexander, 1985). Les études sur ce sujet sont toutefois trop incomplètes pour que l'on puisse éliminer d'emblée cette source de mortalité. Des travaux récents (Proctor *et al.* 1988 ; Bergh *et al.* 1989 ; Borsheim *et al.* 1990 ; Bratbak *et al.* 1990 ; Proctor & Fuhrman, 1990 ; Heldal & Bratbak, 1991) montrent que le rôle des virus bactériophages a été largement sous-estimé jusqu'à présent. Il est significatif que dans une revue des travaux où ceux-ci ont été simultanément déterminés, le taux de mortalité par prédation soit en général inférieur au taux de croissance (Pace, 1988).

II METHODES DEVELOPPEES

Différentes méthodes ont été développées pour déterminer l'activité de prédation sur la communauté bactérienne. Elles peuvent être rassemblées en deux groupes : les méthodes utilisant le découplage entre production bactérienne et prédation et les méthodes utilisant des traceurs de la biomasse bactérienne.

La première approche consiste à découpler la production de biomasse bactérienne et consommation et à mesurer l'évolution de la biomasse bactérienne par rapport à un témoin non perturbé. On peut ainsi distinguer le découplage par :

- (1) : tamisage (Wright & Coffin, 1984),
- (2) : dilution (Landry *et al.* 1984),
- (3) : emploi d'inhibiteurs spécifiques des eucaryotes prédateurs (Newell *et al.* 1983) ou
- (4) : emploi d'inhibiteurs spécifiques des bactéries (Fuhrman & Mc Manus, 1984).

Si l'on utilise un modèle de croissance exponentiel, on peut décrire l'équilibre entre production et mortalité de la manière suivante : $N(t) = N(0) \exp((\mu - g) t)$ (1)
avec $N(t)$ et $N(0)$ abondances bactériennes aux temps t et t_0 , μ taux de croissance et g taux de prédation.

Ainsi le taux de croissance apparent $\mu_a = \mu - g$ est nul et l'abondance cellulaire est stable lorsque production et prédation s'équilibrent dans l'échantillon non perturbé.

Lorsque l'activité de prédation est inhibée, $g = 0$ et le nombre de bactéries doit augmenter avec un taux apparent $\mu_a' = \mu$. Le taux de grazing est alors calculé en effectuant la différence entre taux de croissance apparent dans l'échantillon où la prédation est annulée, et le taux de croissance dans l'échantillon brut ($\mu_a' - \mu_a = g$). De manière comparable, en annulant la croissance bactérienne à l'aide d'antibiotiques spécifiques μ tend vers 0 et le nombre de bactéries doit décroître avec un taux apparent $\mu_a'' = -g$. Enfin, la méthode de dilution suppose que g est proportionnel à la dilution D de l'échantillon, alors que μ n'est pas affecté par celle-ci. On a alors dans l'échantillon non dilué $\mu_a = \mu - g$ et dans l'échantillon dilué $\mu_a''' = \mu - g \cdot D$. On obtient donc $g = (\mu_a''' - \mu_a) / (1 + D)$

L'autre approche est de type "traceur" et consiste à marquer spécifiquement les proies (bactéries naturelles, cultivées ou substituts artificiels) et à suivre leur disparition dans le milieu ou leur apparition dans les organismes prédateurs. Le taux de décroissance g est alors directement mesuré. On peut distinguer ainsi :

- (5) : le marquage spécifique des bactéries par la thymidine et le suivi de l'apparition du marquage total dans les organismes triés individuellement (Hollibaugh *et al.* 1980, Gast, 1985) ou
- (6) : dans les classes de tailles supérieures par tamisages différentiels (Güde, 1986)
- (7) : le marquage spécifique des bactéries par la thymidine et le suivi de la disparition du marquage TCA précipitable dans l'échantillon caractérisant la mortalité totale bactérienne (Servais *et al.* 1985).
- (8) : la mesure de l'uptake de particules ou de sphères de latex fluorescentes mimant les bactéries (Cynar & Sieburth, 1986 ; Pace & Bailiff, 1987 ; Mc Manus & Fuhrman, 1986, 1988a).

- (9) : la mesure de l'uptake de bactéries marquées par un fluorochrome (Fluorescently Labelled Bacteria ou FLB) et inactivées à la chaleur (Sherr *et al.* 1987).
- (10) : la mesure de la vitesse de disparition du milieu de "minicellules" mutantes d'*Escherichia coli* incapables de se diviser (par manque d'ADN chromosomique) et transformées pour produire une protéine spécifique, marquée à la ³⁵S-méthionine (Wikner *et al.* 1986).

Ces nombreuses méthodes mesurent souvent des aspects différents de la prédation, et ne donnent donc pas obligatoirement des résultats comparables. Elles présentent des inconvénients et des limites spécifiques (voir revue par Mc Manus & Fuhrman, 1988b).

D'une manière générale le découplage entre croissance et prédation présente le risque de modifier le taux de croissance bactérien. Plusieurs travaux mentionnent un effet feedback positif de la prédation sur l'activité de croissance bactérienne, par reminéralisation de N et P, conduisant à une diminution du taux de croissance lorsque la prédation est supprimée (Andersson *et al.* 1985 ; Taylor *et al.* 1985 ; Sherr *et al.* 1986). On obtient donc ainsi une sous-estimation de la prédation. A l'opposé, le tamisage est souvent source d'enrichissement, par éclatement des organismes fragiles, notamment en amino-acides (Fuhrman & Bell, 1985) susceptibles de stimuler la croissance bactérienne et donc de conduire à une surestimation de l'activité des prédateurs. Cet inconvénient est retrouvé dans la méthode proposée par Landry *et al.* (1984), dans laquelle l'eau de dilution peut également être enrichie lors de sa filtration.

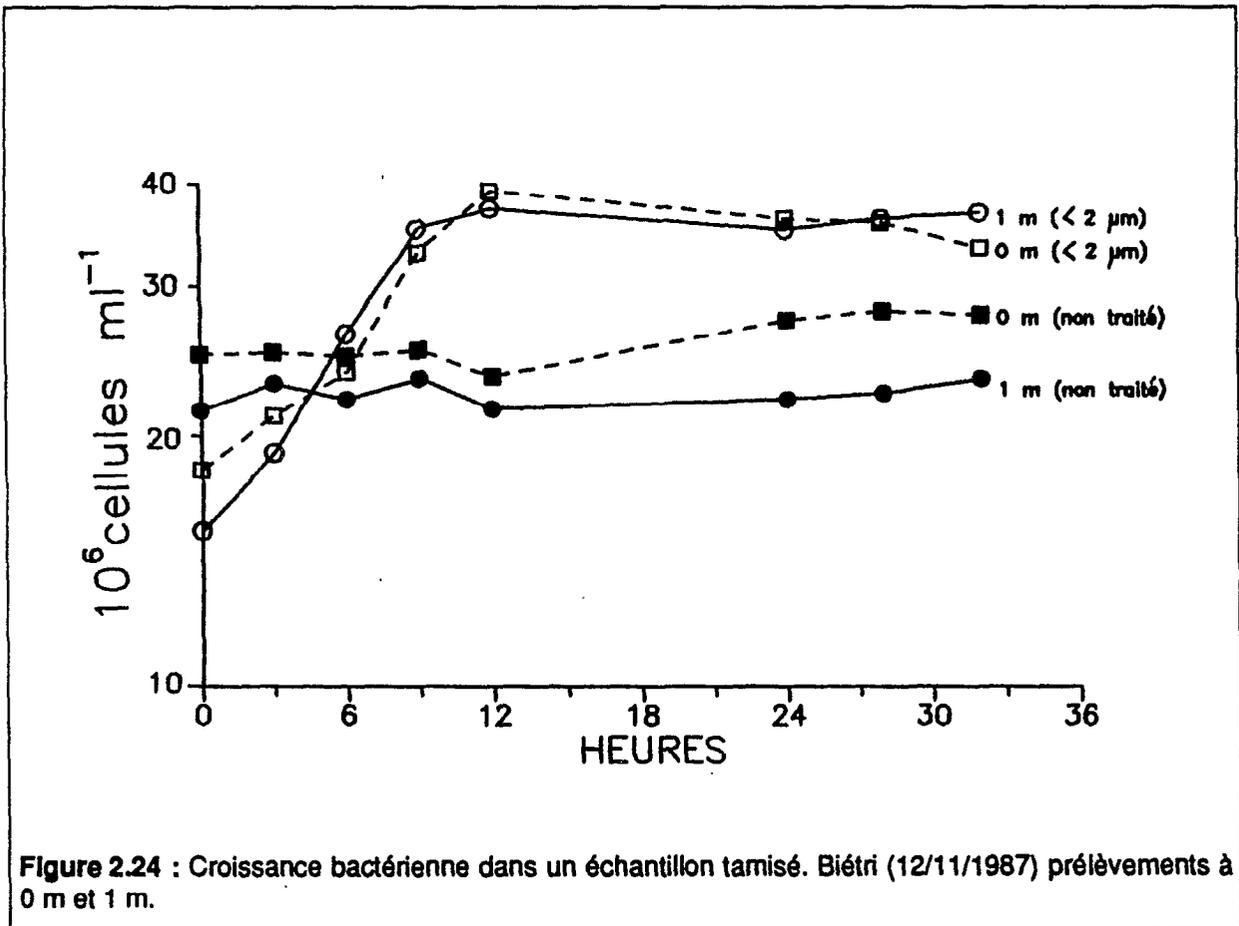
Les difficultés liées à l'emploi d'inhibiteurs sont nombreuses (revue par Oremland & Capone, 1988), la principale étant qu'ils doivent agir spécifiquement et complètement sur les organismes cibles (procaryotes ou eucaryotes). Ces agents donnent des résultats variables selon les organismes impliqués et doivent donc être testés chaque fois qu'on entend les utiliser dans un nouveau milieu.

Les approches de type "traceur" ne sont pas non plus exemptes d'inconvénients. L'uptake de sphères fluorescentes donne des taux de prédation souvent très inférieurs à ceux déterminés à l'aide de FLB (Sherr *et al.* 1987 ; Pace & Bailiff, 1987 ; Nygaard *et al.* 1988). La discrimination entre particules artificielles et bactéries repose sur des critères encore mal identifiés comme le "goût" (comme la discrimination entre bactéries à Gram + et à Gram -, Gonzalez *et al.* 1990) ou mieux connus comme la taille (Andersson *et al.* 1986 ; Newell & Turley, 1987 ; Chrzanowski & Simek, 1990 ; Gonzalez *et al.* 1990). Enfin, un inconvénient partagé par les mesures d'uptake de sphères ou de bactéries marquées est l'égestion possible par les organismes prédateurs lors de leur fixation par l'agent conservateur (Sieracki *et al.* 1987).

En dehors de leurs inconvénients propres, les méthodes de mesure de prédation ne sont pas également applicables dans tous les milieux. D'une manière générale, la séparation des bactéries de leurs prédateurs au moyen d'un tamisage est inadéquate dans les milieux, tels la lagune Ebré, où il existe un large recouvrement de leurs spectres de taille respectifs.

La séparation par tamisage des bactéries et de leurs prédateurs a été tentée en Baie de Biétri. Des différences significatives de l'abondance bactérienne ont été obtenues entre échantillons tamisés

(sur membrane Nucleopore de porosité 2 μm) et échantillons non perturbés (Fig. 2.24). Ces résultats n'ont toutefois qu'un intérêt qualitatif. Dans les milieux turbides comme la lagune, la filtration sans colmatage d'un volume suffisant pour minimiser l'effet de parois dans le flacon d'incubation (Ferguson *et al.* 1984) requiert un nombre irréaliste de membranes pour chaque échantillon. Le colmatage risque de biaiser les résultats en changeant le spectre de taille bactérien et surtout de stimuler artificiellement la croissance bactérienne par l'enrichissement du milieu causé par le bris des cellules fragiles.



La méthode des tamisages différentiels développée par Güde (1986) n'est pas, non plus, réalisable en lagune, notamment en Baie de Biétri où la forte proportion de l'activité fixée sur particules masque l'apparition du marquage ^3H -thymidine des bactéries dans les classes de tailles supérieures.

Au total, trois approches ont pu être essayées en lagune Ebrié : la mesure de la vitesse du marquage ^3H -thymidine dans les macromolécules (Servais *et al.* 1985), l'emploi d'un inhibiteur des eucaryotes (le cycloheximide) et l'emploi d'inhibiteurs des procaryotes.

III RESULTATS

1. Disparition de l'ADN bactérien marqué

La méthode proposée par Servais *et al.* (1985) est probablement la plus séduisante de toutes car la mesure de la mortalité totale s'effectue sans autre perturbation que le marquage des bactéries par la thymidine.

a. Principe

L'ADN étant conservatif dans une cellule (hors phénomènes de réparations et transferts en principe minimes), la dégradation du DNA bactérien (suivie par la décroissance du marquage ^3H -thymidine dans le matériel TCA précipitable) reflète la mortalité bactérienne totale. La vitesse d'hydrolyse du DNA extracellulaire, testée dans divers milieux (Servais *et al.* 1985), est en effet supérieure à la vitesse de la lyse cellulaire correspondante. Le protocole décrit est simple : une faible quantité de thymidine tritiée est ajoutée à un échantillon d'eau non traité. Après une phase de marquage linéaire, un plateau est atteint lors de l'épuisement du marqueur. Celui-ci est suivi d'une décroissance de la radioactivité TCA précipitable selon une cinétique du premier ordre. Cette décroissance est proportionnelle à la mortalité totale de l'assemblage bactérien marqué. Lors de l'épuisement du marqueur, le tamisage d'une partie de l'échantillon sur une membrane Nuclepore de porosité 2 μm (pour minimiser la prédation), et son suivi de manière identique permettent d'estimer la mortalité résiduelle et par différence la prédation par les organismes supérieurs à 2 μm .

b. Réalisation en lagune Ebré

Les premiers essais, entrepris en Baie de Biétri, ont montré que la durée nécessaire pour épuiser le marqueur (2nM) était trop longue (10 à 15 h en général, voir Fig. 2.25) pour effectuer la totalité de la mesure en 24 h. Au delà de cette durée, l'activité et la biomasse des assemblages bactériens issus de la lagune augmentent en général fortement, probablement en raison de la croissance sur les parois et du confinement du matériel destiné à sédimenter dans les flacons. Des essais ont été entrepris pour arrêter l'incorporation à l'aide de thymidine (200 nM) non marquée. Les résultats étaient en général variables. L'addition d'un mélange de thymidine et de thymine (200 + 200 nM) recommandée par Bjornsen (1988) ralentissait d'avantage l'incorporation sans conduire à un arrêt suffisamment rapide (Fig. 2.26). Une explication possible est que la production de produits tritiés issus du catabolisme de la thymidine soit suivie d'une réincorporation de ceux-ci par les communautés bactériennes au cours des longues durées d'incubation nécessaires. Le protocole a donc été finalement adapté de la manière suivante :

Un échantillon de 10 ml d'eau du milieu est marquée pendant 1 h avec 2 nmol l⁻¹ de thymidine tritiée. Celui-ci est ensuite divisé en 2 fractions de 5 ml. Une fraction est mélangée à 250 ml d'eau du milieu non traitée (flacon A). L'autre moitié est filtrée sous faible dépression sur une membrane de 0,2 μm et inoculée dans un deuxième échantillon de 250 ml d'eau du milieu. Celui-ci sert de contrôle d'incorporation des produits tritiés libérés par le catabolisme de la thymidine lors du marquage (flacon B). La radioactivité TCA précipitable est alors suivie à intervalles réguliers dans les 2 échantillons. La différence entre les dpm obtenus dans les deux flacons représentée au cours du temps montre une décroissance avec une cinétique de premier ordre, en principe proportionnelle à la mortalité

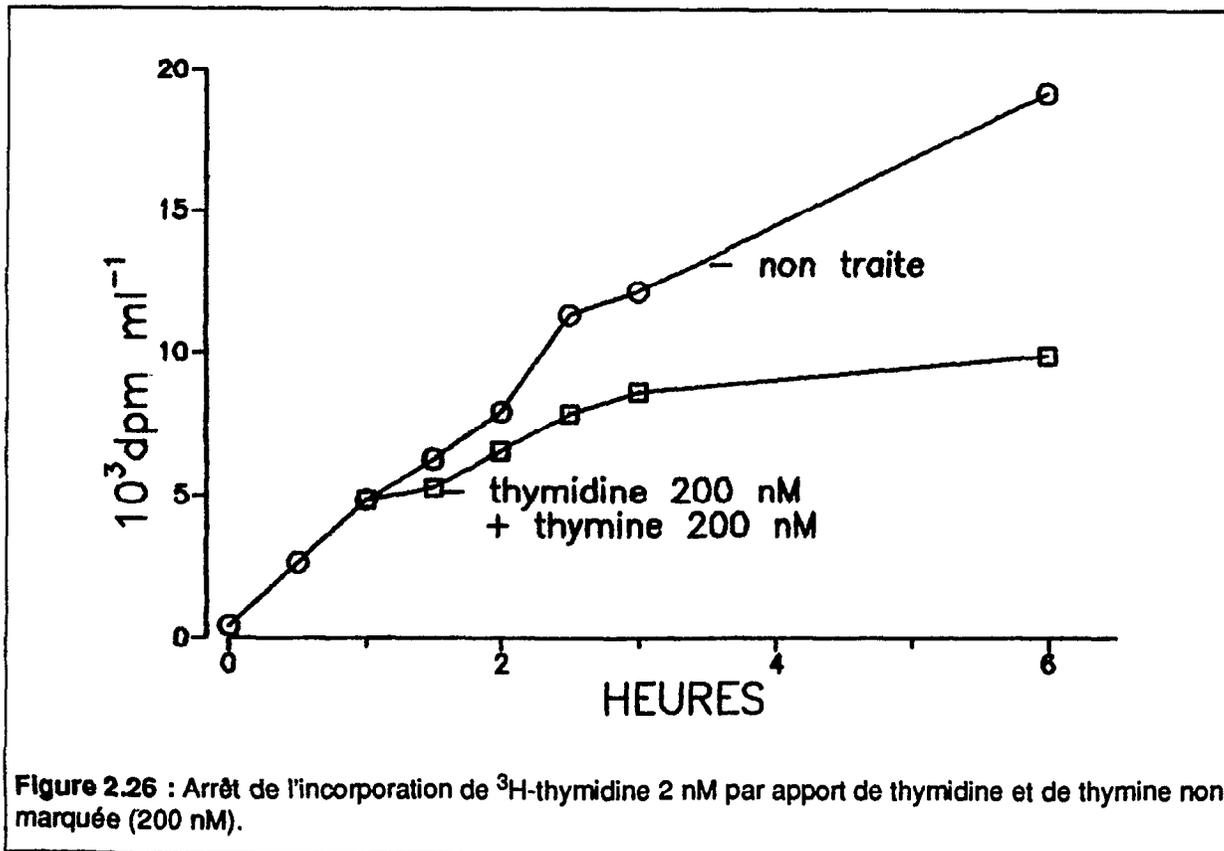
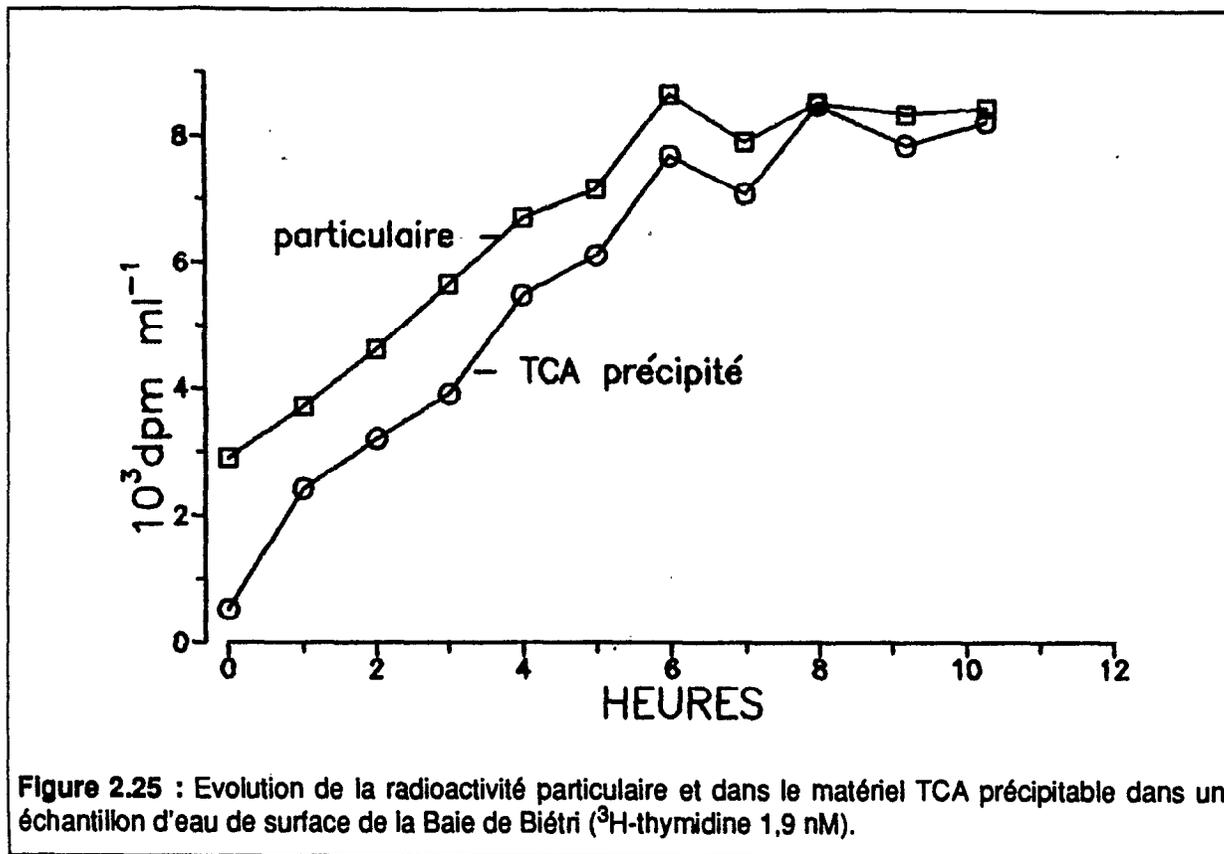
bactérienne totale (Fig. 2.27). La même procédure a été appliquée à des échantillons préfiltrés sur membranes de 3 µm (suppression de la prédation par les organismes supérieurs à 3 µm) et 0,2 µm (suppression de la prédation totale). Les décroissances obtenues suivent un ordre satisfaisant (Fig. 2.28). La décroissance dans l'échantillon non traité (0.025 h⁻¹) est supérieure à celle observée dans l'échantillon où la prédation par les organismes > 3 µm est supprimée (0.012 h⁻¹), elle-même supérieure à la décroissance observée dans l'échantillon où toute prédation est supprimée (0.007 h⁻¹).

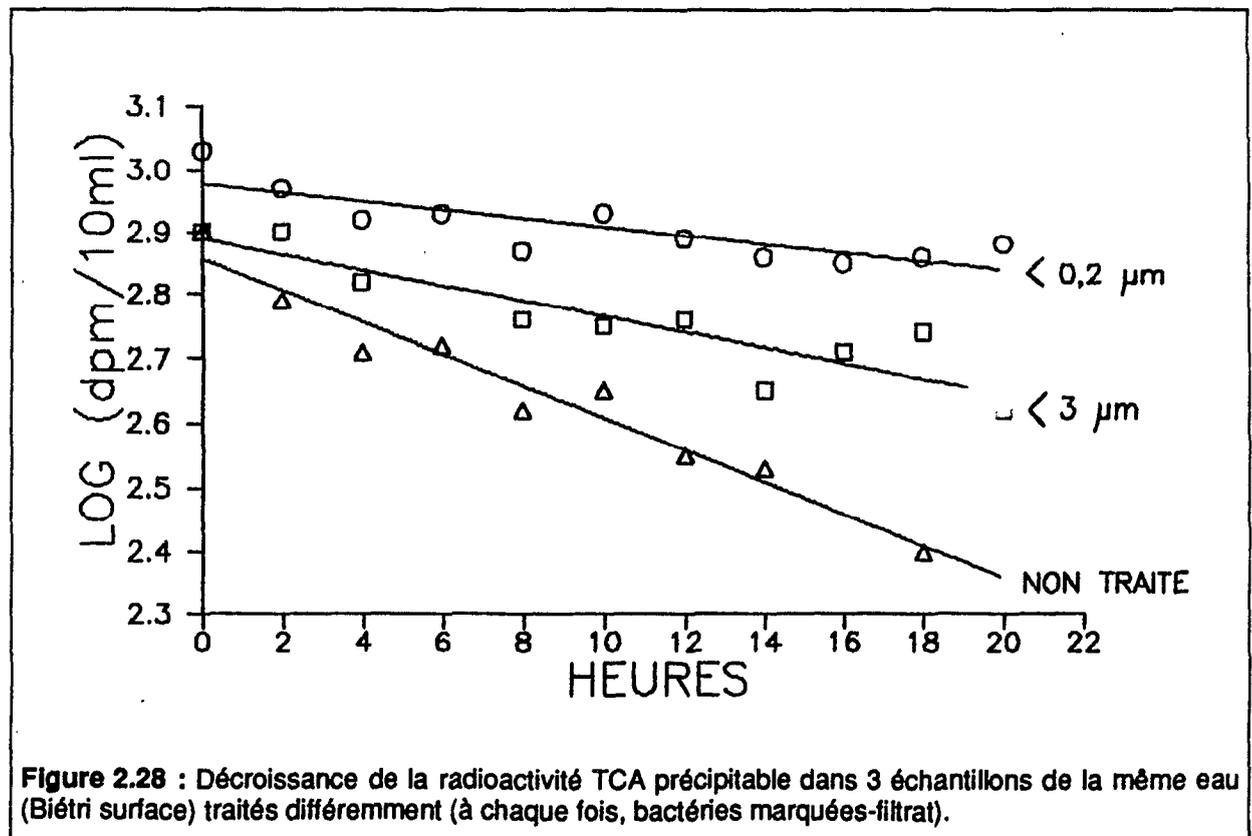
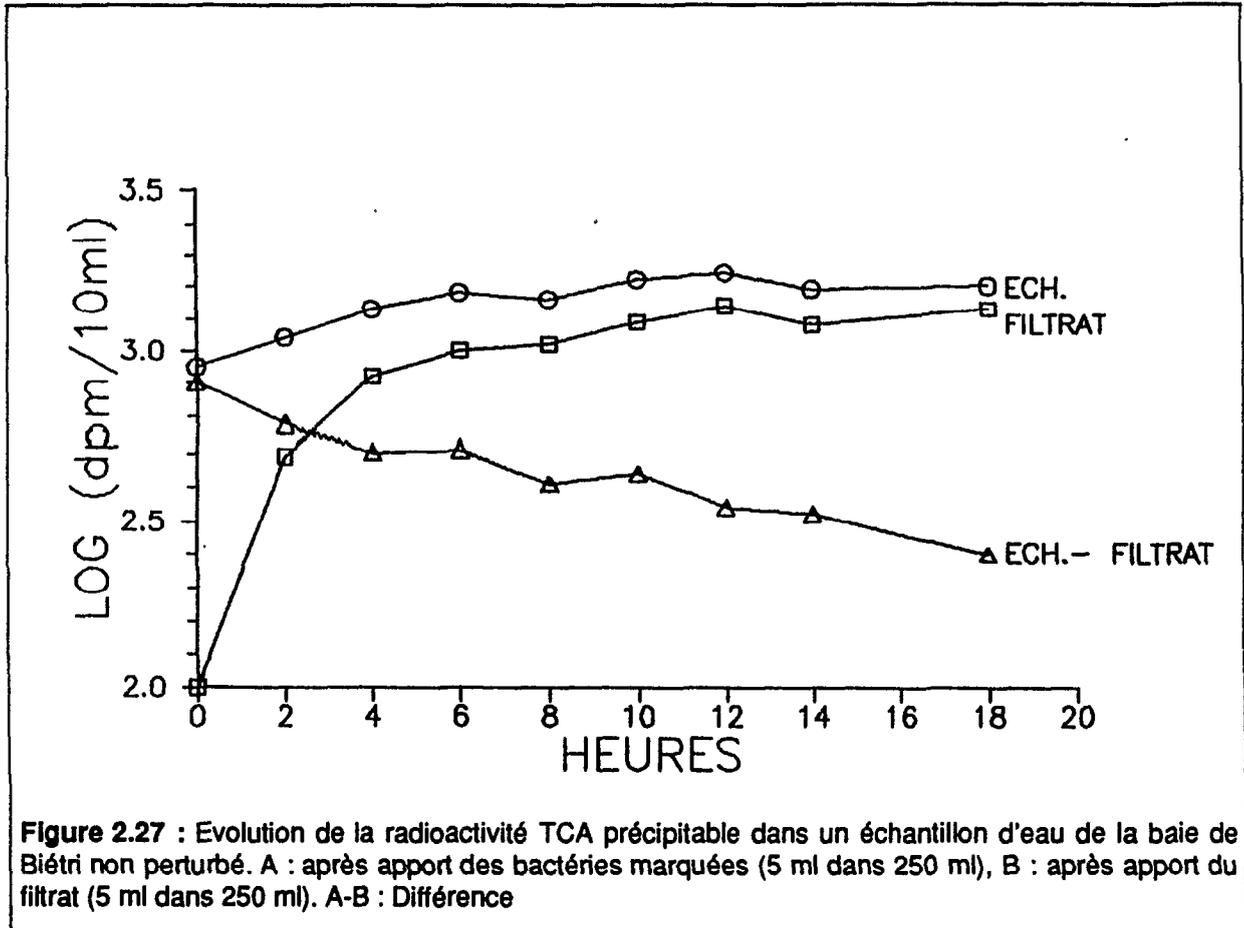
Néanmoins les taux de décroissance observés dans les échantillons bruts n'ont jamais dépassé 0,030 h⁻¹. La mortalité bactérienne déterminée au moyen de cette procédure modifiée n'atteint en moyenne que 36% de la croissance estimée (Tab. 2.15).

Tableau 2.15 : Comparaison des taux de mortalité obtenus avec la mesure de la décroissance du marquage ³H-Tdr de l'ADN bactérien avec les taux de croissance d'assemblages bactériens issus des eaux de surface de la lagune Ebrié.

Abondance bactérienne 10 ⁹ l ⁻¹	Incorporation de thymidine nmol l ⁻¹ h ⁻¹	Taux de Croissance (h ⁻¹)	Temps de génération (h)	Mortalité ln(A) (h ⁻¹)	totale ln(A-B) (h ⁻¹)	Mortalité/ Croissance %
Biétri (01-03-88) 26.3	2.345	0.066	10.5	0.013 ^b 0.796 ^c 9 ^d	-0.025 ^b -0.975 ^c 9 ^d	38
Biétri (03-03-88) 24.8	2.422	0.072	9.6	-0.008 -0.890 7	-0.027 -0.984 7	37
Biétri (12-10-88) 26.7	2.164	0.060	11.6	-0.009 -0.894 7	-0.024 -0.947 7	40
Adiopodoumé (14-10-88) 16.2	0.997	0.046	15.2	-0.018 -0.972 7	-0.026 -0.978 7	58
Adiopodoumé (13-12-88) 18.7	1.338	0.053	13.1	-0.006 -0.665 7	-0.022 -0.942 7	41
Adiopodoumé (20-12-88) 10.2	0.641	0.047	14.9	-0.007 -0.847 6	-0.021 -0.899 6	45
Biétri (05-01-89) 23.3	1.687	0.054	12.9	-0.008 -0.826 5	-0.014 -0.907 5	27
Biétri (09-02-89) 25.7	1.694	0.049	14.2	-0.005 -0.773 7	-0.012 -0.893 7	25
Biétri (17-02-89) 33.5	2.456	0.054	12.8	-0.015 -0.954 7	-0.030 -0.975 7	55
Moyenne			12.8			41
Ecart-type			1.1			14
N			9			9

^a:calculé par la thymidine, ^b: taux de décroissance = pente de ln(dpm)=f(t), ^c:coefficient de corrélation, ^d : nombre de points.





Avant qu'un protocole satisfaisant d'extraction de l'ADN bactérien soit disponible, les taux de croissances estimés pour la communauté totale étaient de l'ordre de 0,1 - 0,2 h⁻¹ (Torréton *et al.* 1989). Les différences importantes entre taux de croissance et taux de mortalité bactérienne totale, alors que la biomasse était stable dans les flacons d'incubation, ont conduit à l'arrêt des expérimentations selon cette méthode. Depuis, grâce à l'amélioration de l'extraction de l'ADN bactérien conduisant à une réduction du facteur de conversion thymidine/carbone d'un facteur 2,5 (cf. chap.2, étalonnage), les taux de croissance estimés en baie de Biétri se situent entre 0,03 et 0,05 h⁻¹ (chap.3, cycles). Ces taux sont beaucoup plus proches des valeurs de mortalité bactérienne obtenues par cette méthode. Celle-ci présente des limites lorsque le marquage spécifique des communautés bactériennes est faible. En lagune Ebrié la part importante de marquage non spécifique par la thymidine (80% en moyenne) conduit à une production importante de catabolites tritiés qui pourraient être incorporés de manière significative dans les macromolécules au cours des longues incubations requises pour étudier la décroissance. Enfin, une autre limite de la méthode est l'incertitude de la fraction marquée TCA précipitable attribuable aux consommateurs métabolisant les bactéries marquées. Bjornsen (1988) corrige la décroissance en la multipliant par 1,25 pour tenir compte de l'incorporation du marqueur par les flagellés (en leur attribuant une efficacité de croissance de 30%). Cette efficacité devrait donc être estimée lors de l'application de cette méthode dans un nouveau milieu.

2. Inhibiteur des eucaryotes

L'utilisation du cycloheximide, inhibiteur du fonctionnement des ribosomes 80S eucaryotes, pour inhiber l'activité de prédation par les eucaryotes a été proposée par Sherr *et al.* (1986). Depuis cet inhibiteur a été utilisé avec succès par Weisse (1989) en Mer Rouge. Cependant l'efficacité de cette molécule sur les eucaryotes a été controversée (Sanders & Porter, 1986 ; Bjornsen, 1988) et, de plus, des effets inhibiteurs sur la croissance bactérienne ont pu être observés dans divers milieux. En milieu limnique, Tremaine & Mills (1987) reportent une inhibition importante de la croissance de bactéries anaérobies avec des concentrations comprises entre 50 et 100 mg l⁻¹. En milieu marin oligotrophe, Taylor & Pace (1987) ont observé une inhibition de 68% de la synthèse d'ADN et d'ARN bactériens avec 50 mg l⁻¹. Enfin Novitsky (1990) rapporte une inhibition bactérienne par 100 mg l⁻¹ dans un sédiment limnique. Il semble que l'emploi du cycloheximide soit inadéquat dans certains milieux, sans qu'il soit possible actuellement d'établir des conditions types d'utilisation. Il apparaît donc indispensable de tester l'inocuité de cette molécule sur les peuplements bactériens dont on veut déterminer la consommation.

L'effet de diverses concentrations de cycloheximide a été testé sur des cultures d'assemblages bactériens issus de la baie de Biétri avec la même technique que celle utilisée pour les étalonnages entre incorporation de thymidine et production de cellules. Un inoculum d'eau tamisée sur membrane Nucleopore de porosité 2 µm est dilué dans 9 volumes de la même eau tamisée sur membrane de 0,2 µm. Des sous-échantillons (50 ml) répartis en erlens de 100 ml, reçoivent différentes concentrations de cycloheximide et sont disposés sur une table d'agitation (100 rpm) à température ambiante (environ 26-28°C). A différents intervalles de temps des échantillons sont prélevés pour déterminer l'abondance bactérienne et l'activité d'incorporation de thymidine.

Au total, trois séries d'expérimentations ont été effectuées. La croissance bactérienne semble systématiquement inhibée par le cycloheximide, même à faible concentration (Fig. 2.29). Cette inhibition exclut donc son emploi comme inhibiteur spécifique des prédateurs eucaryotes en lagune Ebrié.

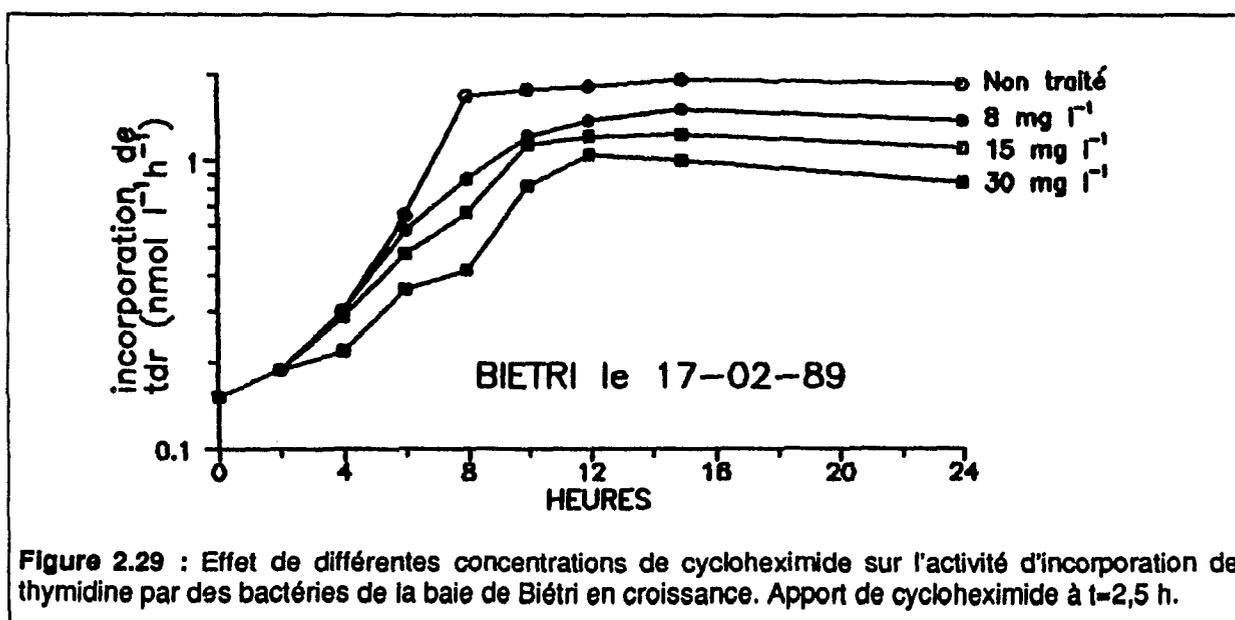


Figure 2.29 : Effet de différentes concentrations de cycloheximide sur l'activité d'incorporation de thymidine par des bactéries de la baie de Biétri en croissance. Apport de cycloheximide à t=2,5 h.

3. Inhibiteurs des procaryotes

a. Principe

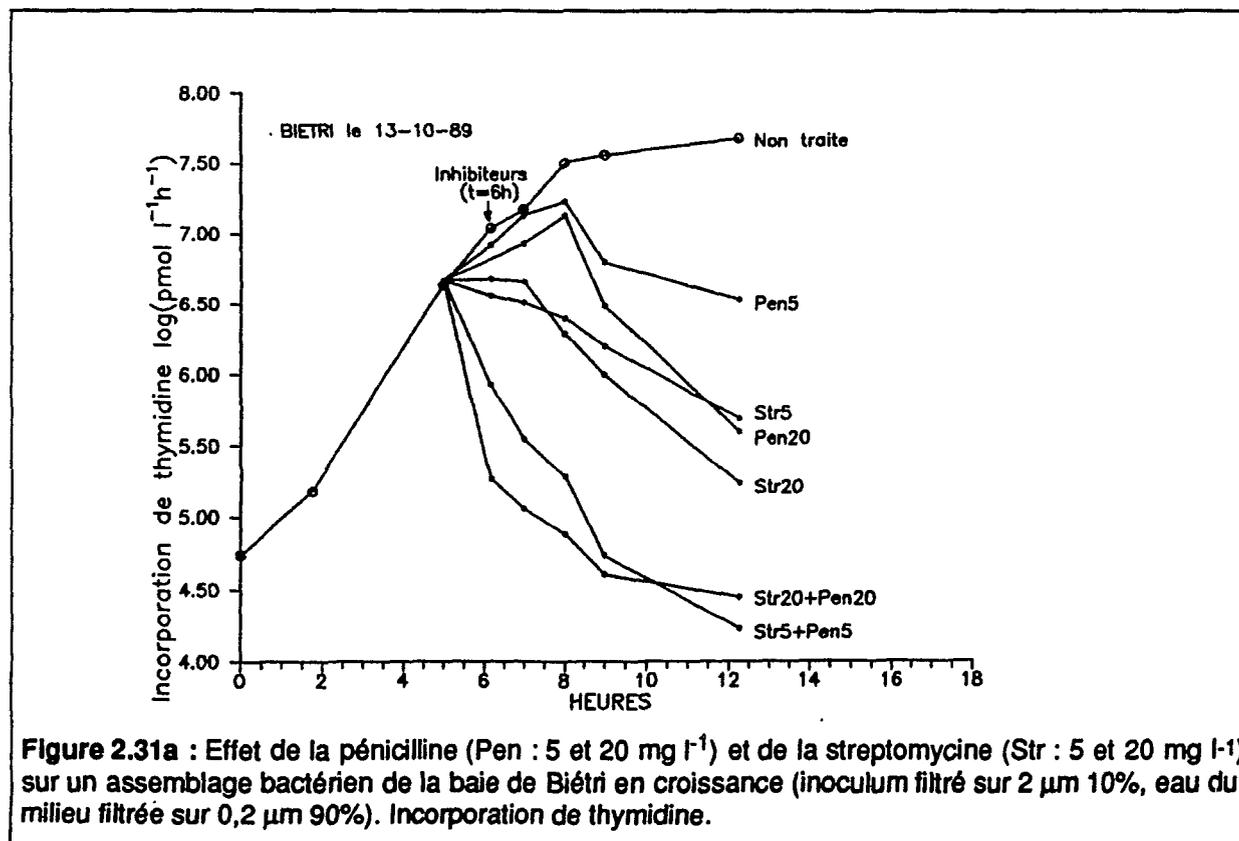
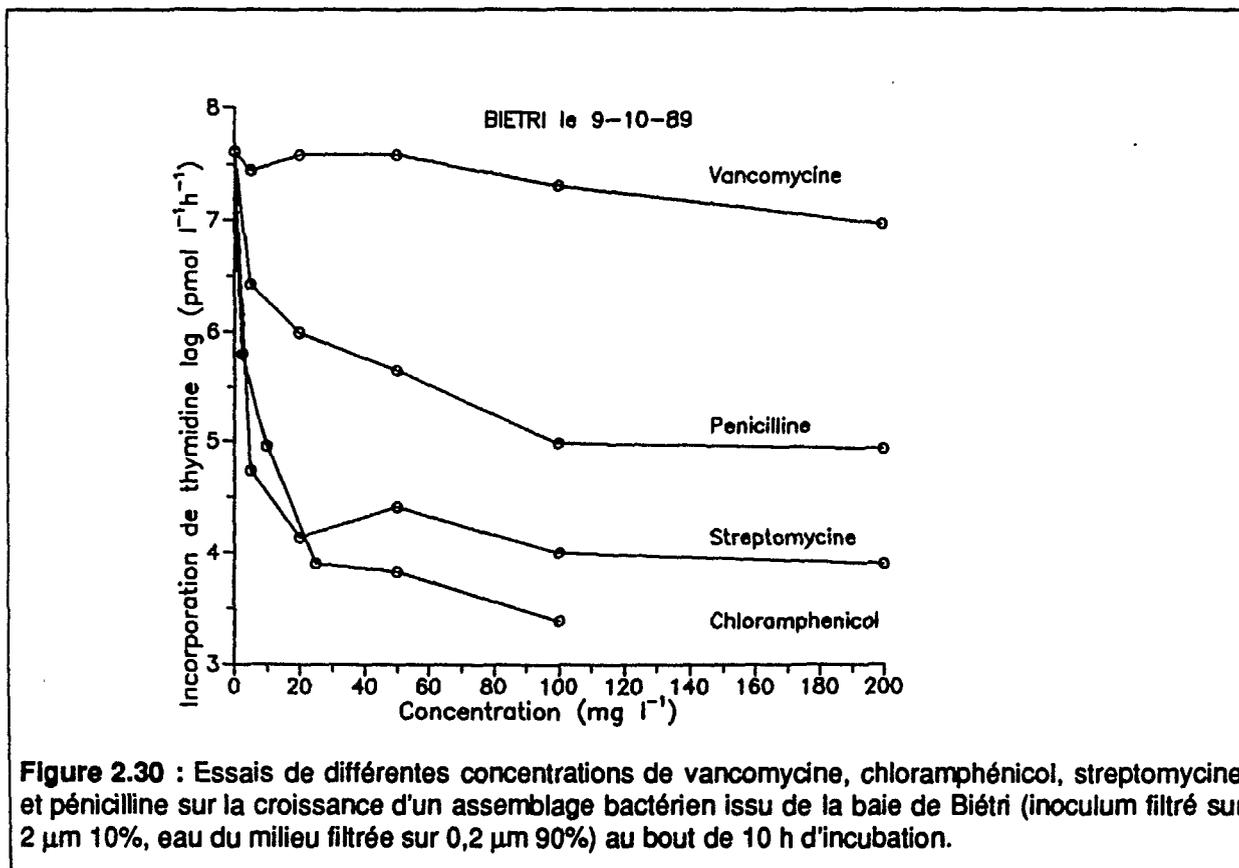
Le principe de la méthode est comparable à celui décrit précédemment. Si l'on inhibe la croissance bactérienne à l'aide du ou des antibiotiques adéquats, μ tend vers zéro et la biomasse bactérienne décroît avec une cinétique d'ordre 1 selon l'équation : $N_{(t)} = N_{(0)} \exp(-gt)$. L'étude de la cinétique de décroissance de l'abondance bactérienne permet donc d'accéder au taux de prédation g .

Les conditions d'emploi des inhibiteurs de procaryotes sont symétriques de celles requises pour les inhibiteurs d'eucaryotes : ces agents doivent être efficaces sur les bactéries mais sans effet sur les prédateurs. De plus, il faut qu'ils ne soient pas directement responsables de la disparition de la biomasse bactérienne en induisant une lyse des cellules. L'efficacité des antibiotiques dépend de la structure des communautés bactériennes, elle peut donc varier selon les milieux. Il importe donc de tester différents antibiotiques lorsque l'on aborde l'étude d'un nouveau milieu.

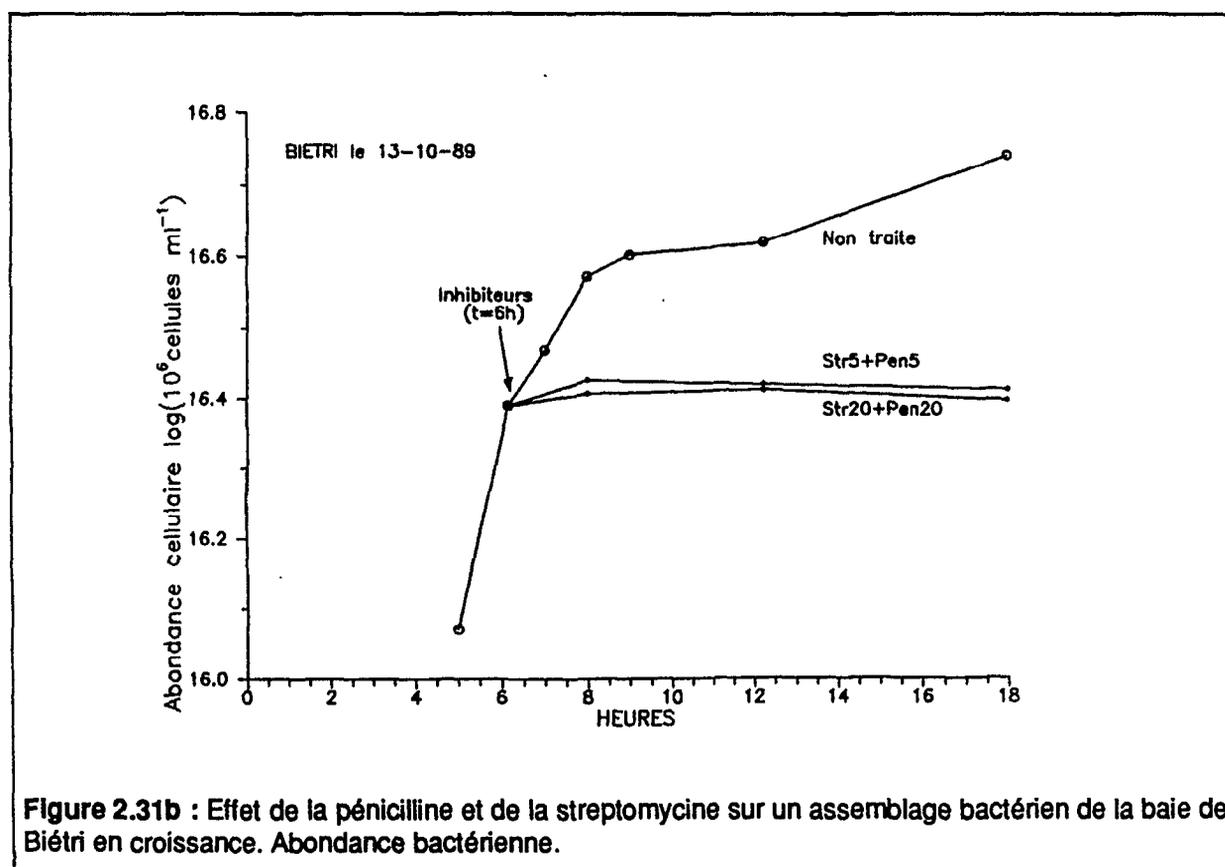
L'inocuité des inhibiteurs procaryotes sur les prédateurs eucaryotes n'a pas été testée en lagune. Toutefois, la concordance satisfaisante entre taux de prédation et taux de croissance, lorsque le mélange adéquat a été trouvé, suggère que les inhibiteurs utilisés étaient spécifiques des bactéries. Les deux autres conditions (efficacité et absence de lyse induite) ont, par contre, pu être testées.

b. Test d'efficacité des antibiotiques

En utilisant le même protocole que celui décrit plus haut, quatre antibiotiques différents ont été testés seuls et en association : le chloramphénicol et la vancomycine, inhibiteurs de la synthèse protéique au niveau de la sous-unité 70s des ribosomes, la pénicilline G (benzyl-pénicilline), inhibant la synthèse des parois cellulaires et la streptomycine, inhibant la synthèse protéique au niveau de la sous-unité 30S. Ces essais (Fig. 2.30) ont permis de montrer que la vancomycine n'inhibe qu'une faible part des communautés bactériennes issues de la baie de Biétri, même à concentration élevée, alors qu'elle semble efficace sur des assemblages issus de l'estuaire de la Duplin river (Sherr *et al.* 1986). Le chloramphénicol, la streptomycine et la pénicilline inhibent plus efficacement la croissance d'assemblages bactériens issus de la baie de Biétri à faible concentration (Fig. 2.30). Une inhibition de l'activité de prédation par le chloramphénicol (100 mg l^{-1}) a toutefois déjà été reportée (Sherr *et al.* 1986), bien qu'inversement Sanders & Porter (1986) aient montré une inhibition de la prédation par la pénicilline (100 mg l^{-1}) non observée avec le chloramphénicol (100 mg l^{-1}). Finalement, l'utilisation combinée de streptomycine et de pénicilline (à la même concentration de 20 mg l^{-1}) a permis d'obtenir une inhibition totale de la croissance bactérienne dans les cultures (Fig. 2.31a). Ces deux antibiotiques ne semblent pas agir sur la même fraction du peuplement naturel et leur association s'est révélée aussi efficace dans d'autres milieux (Caron, 1987 ; Bjornsen, 1988).

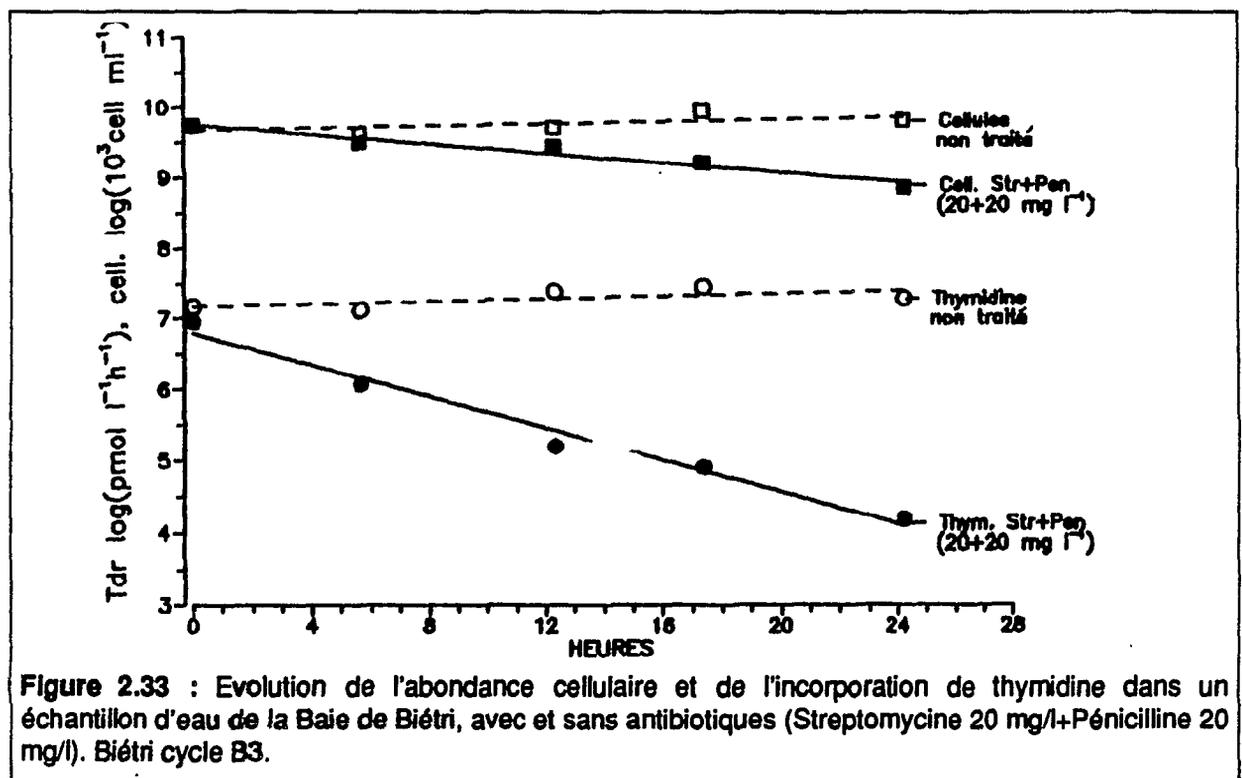
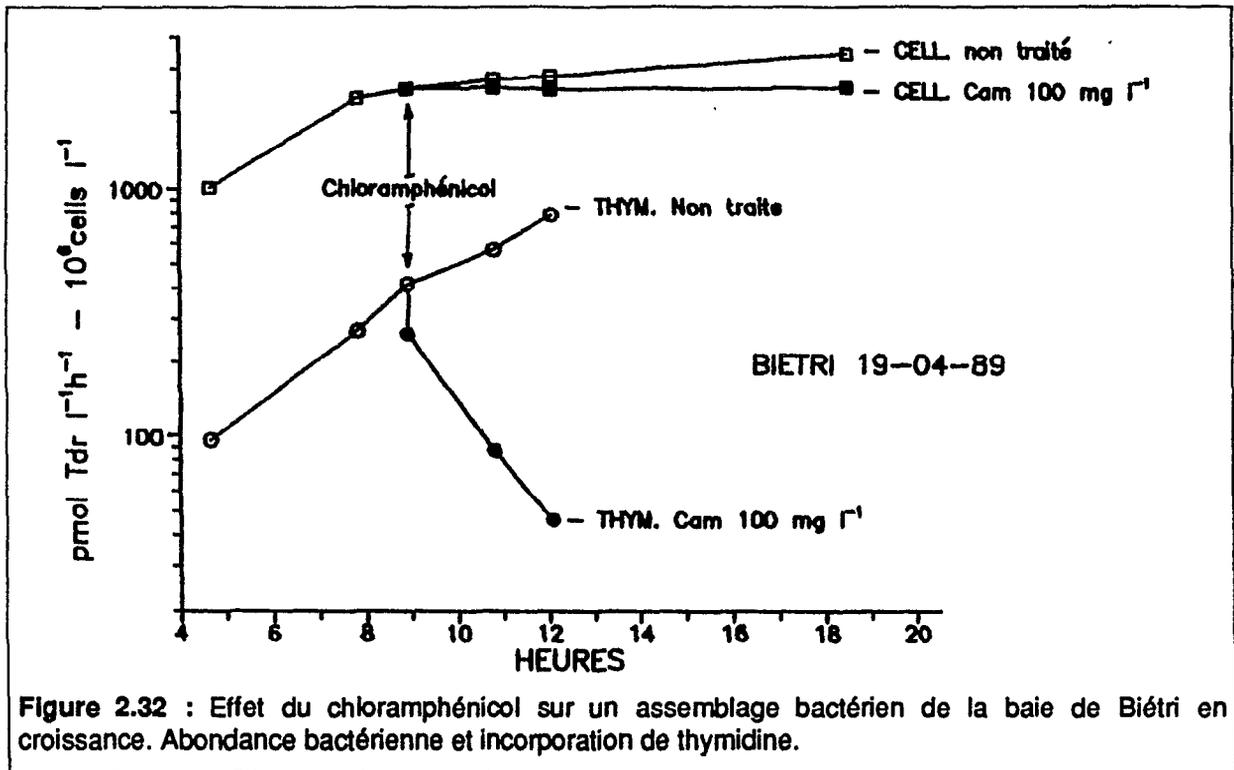


On vérifie généralement que la décroissance des effectifs bactériens n'est pas due à la seule action de l'antibiotique en réalisant un contrôle dans lequel on ajoute à ce dernier un inhibiteur des eucaryotes. La stabilité de la biomasse bactérienne en présence des deux agents indique que la décroissance observée était bien due à la prédation (Fuhrman & Mc Manus, 1984). En lagune, en l'absence d'un inhibiteur d'eucaryotes convaincant, le contrôle a été effectué d'une manière différente. Au cours de certaines cultures de dilution réalisées pour les étalonnages entre incorporation de thymidine et production de cellules, la culture était divisée en deux parties après quelques heures de croissance. L'une de ces fractions n'était pas traitée, l'autre recevait l'antibiotique. Des sous-échantillons étaient prélevés périodiquement pour suivre la biomasse et la productivité bactériennes. Dans la fraction traitée, même plusieurs heures après l'arrêt de la synthèse nucléique, la biomasse bactérienne restait stable en présence de chloramphénicol (Fig. 2.32) ou du mélange streptomycine-pénicilline (Fig. 2.31b). Il ne semble donc pas y avoir de lyse cellulaire induite par ces antibiotiques sur les communautés bactériennes en lagune Ebré.



Lorsque ces antibiotiques sont ajoutés à des échantillons d'eau brute, les biomasses bactériennes décroissent par rapport à un contrôle non traité. Toutefois, l'inhibition n'est pas instantanée. L'activité d'incorporation de thymidine décroît avec une cinétique généralement d'ordre 1 (Fig. 2.33). Cette activité suggère qu'une production de biomasse résiduelle subsiste, et celle-ci a été prise en compte dans les calculs du taux de prédation. Le temps de renouvellement moyen des

bactéries estimé avec cette méthode est de l'ordre de 10-15 h, une valeur relativement proche du temps de génération bactérien en lagune. Les résultats sont développés au chapitre 3.



D - ACTIVITE DU SYSTEME DE TRANSPORTS D'ELECTRONS (ETS)

I. INTRODUCTION ET PRINCIPE

La détermination de l'activité respiratoire des communautés planctoniques est primordiale dans les études de flux. L'activité respiratoire aérobie peut être déterminée par la mesure de sa réaction terminale, la consommation d'oxygène. Cette méthode est malheureusement trop peu sensible pour permettre des mesures fiables en milieu océanique oligotrophe. Tous les organismes vivants présentent une chaîne de transferts d'électrons membranaire associée au processus respiratoire. L'idée de déterminer l'activité respiratoire en mesurant directement le flux d'électrons traversant la chaîne respiratoire (l'activité ETS) a été développée par Packard (1969, 1971) et reprise depuis par de nombreux auteurs. Le postulat de départ était qu'il existe une relation constante entre respiration et activité ETS des organismes planctoniques. La plupart des travaux ont mentionné des relations empiriques entre ces deux processus, assez variables *in situ*, et plus constantes sur des groupes particuliers (phytoplancton, zooplancton, microhétérotrophes planctoniques, bactéries). Dans la pratique, le fait que les rapports ETS/respiration varient largement avec la nature des organismes et leur état physiologique limite la portée de cette relation aux écosystèmes dominés par un groupe particulier comme les zones d'upwelling (Packard, 1985) ou certains sédiments (Cammen *et al.* 1990). Cependant, cette mesure présente l'intérêt de ne pas se limiter aux seuls processus aérobie mais également de permettre l'estimation de l'activité hétérotrophe potentielle dans les environnements anoxiques. C'est la raison pour laquelle cette méthode a été utilisée dans la colonne d'eau de la baie de Biétri.

L'activité ETS est déterminée sur des extraits cellulaires en mesurant, par spectrophotométrie, la vitesse maximale de réduction d'un accepteur terminal artificiel, l'INT (2-[*p*-iodophenyl]-3-[*p*-nitrophenyl]-5-[phenyl-tetrazolium chloride]), en Formazan absorbant fortement la lumière à 490 nm. La vitesse maximale est atteinte en incorporant au test les substrats (NADH et succinate pour l'ETS mitochondrial, NADPH pour l'ETS bactérien et microsomal) en conditions saturantes.

II. PROTOCOLE EMPLOYE

1. Prélèvement stockage

Les échantillons d'eau, préfiltrés sur filet à plancton de 10 μm de maille pour éliminer les organismes zooplanctoniques (le phytoplancton est inférieur à cette maille, Arfi *et al.* 1981), sont concentrés par filtration (< 15 cm Hg) sur membrane en fibre de verre Whatman GF/F (47 mm). Les membranes sont alors rincées deux fois par 50 ml d'une solution stérile isotonique de NaCl à 2°C pour minimiser la réduction de l'INT par les composés réduits présents dans la colonne d'eau anoxique. Elles sont ensuite conservées dans l'azote liquide jusqu'à l'extraction.

2. Préparation de l'extrait cellulaire

L'analyse est effectuée selon une adaptation d'un protocole initialement décrit par Packard & Williams (1981).

Les filtres encore congelés sont plongés dans un cylindre de Potter contenant 2 ml de la solution d'homogénéisation (Tampon phosphate 50 mM, pH8, Triton X100 2 ml l⁻¹, PVP 40 1,5 g l⁻¹, NaCN 0,1g l⁻¹, MgSO₄ (7H₂O) 18,5 mg l⁻¹). Les membranes sont immédiatement broyées 2 min à la température de la glace fondante. Après rinçage du piston par 1 ml de tampon, l'homogénéisation est complétée par passage du broyat (environ 3 ml) aux ultrasons 2 x 1 min dans un bain maintenu à 0-2°C (Bransonic 220 puissance 50 W). Le contenu du cylindre est alors versé dans un tube à centrifuger. Le cylindre est rincé par 1 ml de tampon, ce volume de rinçage est également récupéré dans le tube à centrifuger. L'homogénat obtenu est alors centrifugé 5 min à 5000 rpm à 2°C, le surnageant est prélevé avec une pipette, une deuxième extraction du culot montre que l'activité ETS restante est négligeable. Le volume exact d'homogénat, VH (le degré d'hydratation du filtre varie d'environ 0,2 ml), est déterminé par pesée. L'extrait ainsi préparé est stable quelques heures à 0-4°C.

3. Réalisation du test

Le test est réalisé en ajoutant 200 μl de solution d'extrait à 600 μl de solution de substrats (Tampon phosphate pH 8, Triton X100 2 ml l⁻¹, NADH 0,6 g l⁻¹, NADPH 0,2 g l⁻¹) et 200 μl de solution d'INT (2 g l⁻¹). Le succinate de sodium n'est pas incorporé car son ajout ne se traduit par aucune augmentation détectable d'activité. Après 10 à 15 min d'incubation à l'obscurité à 28°C la réaction est arrêtée en ajoutant 500 μl de solution d'arrêt (H₃PO₄ 0,5 M, formol 20%). L'échantillon est stocké à 4°C à l'obscurité jusqu'à la lecture à 490 nm (DO_{éch}). Pour chaque mesure un contrôle de réduction sans les substrats (NADH, NADPH) permet d'estimer l'activité de réduction d'INT par les composés réduits présents dans la couche anoxique et la contribution des pigments à l'absorbance à 490 nm (Blanc Pigments : DO_{bp}). Pour chaque série de mesures, un contrôle sans extraits enzymatiques (Blanc Substrats : DO_{bs}) permet d'estimer la réduction non-enzymatique de l'INT par les substrats.

4. Calculs

Les résultats sont exprimées en micro-équivalents électrochimiques (μeq). $\cdot\text{l}^{-1}\text{h}^{-1}$ selon le calcul suivant:

$$\text{ETS } (\mu\text{eq}).\text{l}^{-1}\text{h}^{-1} = (\text{DOC}/15900) \times (\text{VT}/\text{VE}) \times (\text{VH}/\text{VF}) \times 10^6 \times 2$$

Avec :

- DOC (Densité Optique Corrigée par heure) : $\text{DOC} = \text{DO}_{\text{éch.}}/\text{h} - \text{DO}_{\text{bp}}/\text{h} - \text{DO}_{\text{be}}/\text{h}$

Dans chaque cas ($\text{DO}/\text{h} = (\text{A}_{490} - \text{A}_{750})/\text{h}$). A_{750} = contrôle de turbidité.

- VT : volume final du test (1,5 ml), VE : volume d'extrait dans le test (0,2 ml), VH volume de l'homogénat (en ml) et VF volume filtré en (ml).

- 15900 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$: Coefficient d'extinction molaire du formazan

- 2 : stoechiométrie 2 e^- par molécule de formazan produite.

5. Efficacité de rétention des bactéries

L'efficacité des membranes GF/F à retenir les bactéries a été estimée de la manière suivante : Des échantillons d'eau du milieu étaient incubés avec de la [*methyl*- ^3H] thymidine (1nM concentration finale) pendant 45 minutes. Les incubations étaient arrêtées en ajoutant du formol (concentration finale 3%, tamponné au borate de sodium). Pour chaque échantillon un contrôle fixé au formol avant l'incubation était réalisé. Les échantillons étaient alors filtrés sur membrane GF/F dans les mêmes conditions de volume et de dépression que pour la mesure de l'activité ETS. La radioactivité dans le TCA précipité du filtrat GF/F était comparée à celle de l'échantillon brut. La radioactivité retenue par la membrane GF/F, obtenue par différence, représentait 87 à 100% (moyenne 94.6%) en baie de Biétri.

E - AUTRES PARAMETRES

I. CONCENTRATION EN PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

Les concentrations en Chlorophylle *a* et en phéopigments sont déterminées par une méthode dérivée de celle proposée par Yentsch & Menzel (1963). Les pigments retenus sur membranes GF/F (diamètre 25 mm, porosité nominale 0,7 μm) sont extraits au méthanol et la fluorescence est déterminée, avant et après addition d'HCl, à l'aide d'un fluorimètre Turner 111 calibré avec une gamme de concentrations connues de chlorophylle *a*.

II. PRODUCTION PRIMAIRE AU ^{14}C

La production primaire estimée par la fixation autotrophe de CO_2 est réalisée dans des flacons en verre de 125 ml. Après addition du traceur ($\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$), l'échantillon est incubé *in situ*, pendant 2 à 3 heures au niveau du prélèvement (toutes les 2 à 3 h, à 0,50 m pour l'étude des variations nyctémérales (chap.3) et 1 fois par jour tous les 0,50 m de 0 à 3 m pour les profils (chap.4)). Des contrôles sont régulièrement effectués à l'obscurité et sont retranchés des valeurs obtenus à la lumière. L'incubation est arrêtée en filtrant l'échantillon sur une membrane en fibre de verre Whatman G/F sous dépression réduite. Après rinçage avec de l'eau de lagune préfiltrée (Millipore 0.2 μm), les filtres sont disposés dans des fioles à scintillation. Ils reçoivent alors 0,1 ml d'HCl 0,5 N et sont placés 24 h à l'étuve à 40°C. Après l'ajout de scintillant, la radioactivité particulaire est déterminée au moyen d'un compteur à scintillation liquide. Les dpm sont convertis en carbone fixé après correction de la dilution isotopique par le carbone inorganique dissous. Ce dernier est estimé à partir de la mesure de l'alcalinité (Gran, 1952), de la conductivité, de la température et du pH (Stumm & Morgan, 1970). La production primaire est intégrée dans le temps et dans l'espace en utilisant la méthode des trapèzes.

Occasionnellement, la production photosynthétique des organismes inférieurs à 1 μm et 3 μm a été déterminée par tamisage sous faible dépression sur membranes Nuclepore de porosités 1 μm et 3 μm immédiatement après l'incubation.

III. CARBONE ET AZOTE PARTICULAIRES

Les quantités de carbone et d'azote retenues sur membranes en fibre de verre Whatman GF/F prégrillées (450°C - 4 h) sont déterminées au moyen d'un micro-analyseur Perkin-Elmer. La rétention des bactéries sur ces membranes, déterminée en utilisant la même procédure que celle utilisée pour l'activité ETS, est de l'ordre de 95-100% (moyenne 96.1%).

IV. RESPIRATION ET PRODUCTION PHOTOSYNTHETIQUE D'OXYGENE

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'une bouteille General Oceanics de 5 litres, montée en position horizontale pour minimiser l'artefact dû au fort gradient de concentration en oxygène. Le prélèvement est réparti dans six flacons à DBO de 300 ml préalablement lavés à l'acide, rincés puis stérilisés. Deux échantillons sont immédiatement fixés pour estimer la concentration initiale. Un duplicat est incubé à 30°C (température *in situ* $\pm 1^\circ\text{C}$) à l'obscurité pendant 2 à 4 heures pour estimer l'activité respiratoire. Enfin, deux échantillons sont incubés *in situ*, pendant 2 à 3 heures pour estimer la production d'oxygène nette. Occasionnellement, deux flacons supplémentaires recevaient du DCMU et étaient incubés *in situ* dans les mêmes conditions pour déterminer la photorespiration. Les dosages de l'oxygène dissous ont été réalisés selon la méthode iodométrique de Winkler par détection électrométrique du virage (Standard Methods, Am. Pub Health Assoc. Wash.).

Chapitre 3 : ETUDE DE LA VARIABILITE NYCTHEMERALE DES BIOMASSES ET ACTIVITES BACTERIENNES

I. INTRODUCTION

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

III. REALISATION PRATIQUE

1. Choix des sites et des époques

2. Description de l'enceinte - mise en place

3. Paramètres étudiés - méthodes

a. Biologiques

b. Physiques et chimiques

4 Echantillonnage

a. Fréquence

b. Prélèvements

IV. RESULTATS, DISCUSSION

1. Variations spatiales et saisonnières

a. Biomasse photosynthétique et production primaire

b. Biomasse bactérienne et incorporation de thymidine

b.1. Biomasse et activité totales

Abondance cellulaire

Volume cellulaire moyen

Activité

b.2. Proportion de cellules et d'activité fixées

b.3. Activités spécifiques par cellule dans la communauté totale

b.4. Activités spécifiques par cellule des communautés libres et fixées

b.5. Relation entre Cp détritique et abondance bactérienne

c. Respiration et évolution nycthémerale de l'oxygène dissous

d. Sédimentation

e. Prédation

2. Evolution nycthémerale des activités et des biomasses bactériennes libres et fixées

a. Allure générale. Signification des différences jour/nuit

b. Relation avec les sources nutritives

Relation avec l'excrétion phytoplanctonique

Relation avec l'activité zooplanctonique

V. CONCLUSIONS

1. Validité de l'approche en mésocosme

a. Avantages

b. Limites

Représentativité de la masse d'eau
Activité photosynthétique plus faible

2. Caractéristiques des différents sites et époques

3. Représentativité d'une mesure ponctuelle

4. Contrôle de la production bactérienne : bactéries libres et fixées

Bactéries libres

Bactéries fixées

5. Sources de production bactérienne

I. INTRODUCTION

L'étude de la variabilité journalière des principales caractéristiques des communautés bactériennes a suscité de nombreux travaux, sur les lacs, les estuaires et les écosystèmes côtiers et océaniques. Il est en effet primordial de connaître cette variabilité, si l'on veut pouvoir généraliser à l'échelle de la journée des mesures ponctuelles d'activité et de biomasse.

L'évolution des caractéristiques d'état et d'activité des communautés bactériennes (biomasse, minéralisation et production), en dehors de l'effet direct de certaines contraintes physiques (température, inhibition par la lumière ; Sieracki & Sieburth, 1986), est la résultante d'un ensemble complexe de paramètres qui peuvent être rassemblés en deux groupes : la disponibilité nutritive, et les exportations de biomasse (prédation, lyse, sédimentation). Ces paramètres, souvent intimement liés, sont susceptibles de varier sur un cycle journalier et donc d'influencer l'évolution nycthémerale des activités bactériennes. Cette influence est évidemment étroitement dépendante des taux de renouvellement respectifs des nutriments et des organismes considérés.

Parmi les composés constituant le carbone organique dissous les polysaccharides et les acides aminés, plus particulièrement étudiés, montrent des évolutions cohérentes sur 24 h.

Ainsi, les mono et polysaccharides semblent présenter un maximum de jour, en général l'après-midi et le soir (Walsh, 1965 ; Meyer-Reil *et al.* 1979 ; Burney *et al.* 1981, 1986 ; Kaplan & Bott, 1989). Ce maximum est souvent interprété comme étant le résultat de l'excrétion phytoplanctonique (Burney *et al.* 1981 ; Burney, 1989 ; Kaplan & Bott, 1989).

Les amino-acides, et plus généralement les amines primaires, montrent un maximum plus tardif, au cours de la nuit (Meyer-Reil *et al.* 1979 ; Mopper & Lindroth, 1982 ; Kaplan & Bott, 1989). Ce maximum a pu être relié aux variations nycthémerales de l'activité de broutage zooplanctonique sur le phytoplancton (Copping & Lorenzen, 1980 ; Eppley *et al.* 1981 ; Crisman *et al.* 1981 ; Lampert & Taylor, 1981 ; Mopper & Lindroth, 1982 ; Jorgensen *et al.* 1983 ; Riemann *et al.* 1986 ; Jorgensen & Bosselman, 1989). Cette libération de composés organiques labiles serait due principalement à la destruction des cellules phytoplanctoniques au moment de l'ingestion ("sloppy feeding") et à la diffusion à partir des fèces, l'excrétion par le zooplancton étant considérée comme moins importante (Jumars *et al.* 1989). La prédation des bactéries par les flagellés, dont l'activité peut également présenter des variations nycthémerales (Wikner *et al.* 1990), conduit également à la libération d'amino-acides (Andersson *et al.* 1985).

Outre la disponibilité des ressources nutritives, les exportations de biomasse bactérienne peuvent varier au cours d'une journée. Dans certains milieux limniques, le micro-zooplancton peut consommer une part significative de la biomasse bactérienne (notamment les cladocères du genre *Daphnia*, Riemann, 1985 et réf. citées). Les fortes variations nycthémerales de l'activité de broutage du zooplancton peuvent donc avoir une influence sur l'évolution journalière de la biomasse bactérienne. Toutefois, les consommateurs de bactéries les plus généralement mentionnés sont les hétérotrophes nanoplanctoniques, notamment les flagellés dont les variations nycthémerales d'activité n'ont été que peu étudiées. Seul un travail récent mentionne une rythmicité de leur activité en milieu marin (Wikner *et al.* 1990).

Outre l'intérêt évident de préciser la représentativité d'une mesure ponctuelle, l'étude des variations nycthémerales d'activité bactérienne peut donc être riche d'information sur la structure de l'écosystème.

Différentes approches ont été employées pour étudier l'évolution journalière des activités bactériennes. L'étude réalisée en milieu ouvert est l'approche la moins perturbante pour l'écosystème. De fortes fluctuations des paramètres bactériens sont parfois constatées, malheureusement, les rythmes éventuels sont souvent masqués par le déplacement des masses d'eau (Meyer-Reil *et al.* 1979 ; Gocke *et al.* 1987 ; Paul *et al.* 1988). Dans les milieux où les variations des nutriments sont très importantes, comme à proximité d'un site de forte production benthique (herbier, récif corallien, tapis algal) des variations nettes d'activité bactérienne ont pu être reportées (Moriarty & Pollard, 1982 ; Moriarty *et al.* 1985 ; Grobbelaar *et al.* 1987). L'approche en milieu ouvert peut être améliorée en suivant une masse d'eau à l'aide d'une drogue et en prélevant toujours sur la même isotherme (Fuhrman *et al.* 1985). Elle est toutefois peu réaliste en lagune où l'importance de la circulation des masses d'eau et des variations spatiales exigerait un suivi d'une grande précision.

Afin d'éliminer la variabilité induite par l'hydrodynamisme, certaines études ont été réalisées en confinant une fraction de masse d'eau en microcosmes. Ceux-ci sont en général constitués de flacons en verre transparent de 100 à 5000 ml maintenus *in situ* pendant 24 à 48 heures (Riemann *et al.* 1982, 1984 ; Jorgensen *et al.* 1983). Dans la plupart des cas, une croissance bactérienne nette est reportée sur la période d'étude, probablement due en partie à un développement d'organismes sur les parois. Dans les milieux eutrophes où le flux de sédimentation est élevé, le maintien artificiel de la biomasse en voie de sédimentation peut également conduire à un enrichissement non observé *in situ*. Au contraire, l'épuisement des nutriments, normalement fournis par l'activité micro-zooplanctonique, qui est réduite, car mal échantillonnée dans un volume aussi faible, peut se traduire par une baisse des biomasses et activités bactériennes dans les flacons (Turley & Lochte, 1986). Certaines études ont été réalisées en sacs à dialyse (Turley & Lochte, 1986 ; Herndl & Malacic, 1987 ; Caumette *et al.* 1991) dont la porosité permet de minimiser l'épuisement possible des ressources nutritives en conservant les échanges de matériel dissous avec le milieu ambiant. Toutefois ceux-ci ne suppriment pas les inconvénients liés à la sédimentation et à la représentativité du peuplement car les volumes échantillonnés sont en général très faibles, de l'ordre du litre.

Les mésocosmes (définition par Grice & Reeve, 1982) n'ont été que peu utilisés pour étudier des variations nycthémerales d'activités planctonique (Burney, 1981 ; Davies & Williams, 1984). Ceux-ci sont en général constitués d'un film de polyéthylène transparent contenant une masse d'eau de l'ordre de quelques m³, flottant dans le milieu. Leur volume relativement important minimise l'effet relatif de la croissance sur les parois et, dans une certaine mesure, la variabilité due au mauvais échantillonnage des organismes moins abondants. Ils autorisent l'exportation par sédimentation du matériel détritique qui est éventuellement quantifiable à l'aide d'un piège situé à l'intérieur. C'est l'approche qui a été retenue pour cette étude.

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

- Le but principal de cette série d'expérimentations est de préciser la variabilité de la productivité et de la biomasse, dans les fractions libres et fixées des communautés bactériennes, à courte échelle, en milieu lagunaire, afin : (1) - d'estimer la représentativité d'une mesure ponctuelle, à l'échelle de la journée (en dissociant la variabilité proprement nyctémérale de celle induite par l'hydrodynamisme, (2) - d'apprécier, à travers la variabilité journalière des sources nutritives (exudation phytoplanctonique ou production dissoute, "sloppy feeding" et excrétion zooplanctonique ...) leur importance relative dans l'activité bactérienne globale. Ces aspects sont traités en paragraphe 4.2. Evolution nyctémérale des activités et des biomasses bactériennes.

- Sans prétendre à une description exhaustive du milieu lagunaire, la comparaison des paramètres bactériens en trois sites lagunaires différents et à trois saisons lagunaires caractéristiques doit permettre de préciser quelques aspects essentiels du fonctionnement du compartiment bactérien hétérotrophe en lagune. Cet aspect est traité au paragraphe 4.1. Variations spatiales et saisonnières.

- Les études en mésocosmes permettent également d'établir des bilans production/sortie de biomasse bactérienne, c'est-à-dire d'estimer l'importance de la sédimentation et de la prédation dans les exportations de biomasse bactérienne. Ces aspects sont respectivement traités au sein du paragraphe 4.1 en 4.1.4. Sédimentation et en 4.1.5. Prédation.

- Cette série d'expérimentations a également permis de vérifier certains aspects méthodologiques importants ayant trait à la mesure de la productivité bactérienne : la constance de la proportion de l'incorporation de thymidine dans l'ADN aux trois sites quelle que soit l'heure du jour, la constance du facteur de conversion entre l'incorporation de thymidine dans l'ADN et la production de carbone bactérien et enfin sa validation à partir des mesures de la respiration totale. Ces derniers aspects ont été développés au chapitre 2 (cf. paragraphe - B. Production bactérienne).

III. REALISATION PRATIQUE

1. Choix des sites et des époques

Des études préliminaires ont montré que les mouvements d'eau importants induits par les cycles de marées dans les régions ouvertes privilégient exagérément la variabilité spatiale par rapport aux variations temporelles (cf. Fig. 3.1). D'autre part, ces divers courants rendent difficile le maintien de l'enceinte en un point fixe. Les trois sites d'étude se situent donc dans des baies sur des fonds de 3-3,5 m pour les baies d'Abou-Abou et Mopoyem. Le niveau 3 m correspond à la profondeur approximative de la couche oxygénée au site étudié, profond de 9 à 10 m, en baie de Biétri (voir figure 1.1). La baie d'Abou-Abou (A) est située vers l'extrémité est de la lagune Ebrié. C'est une baie à seuil présentant les caractéristiques d'un milieu estuarien non pollué (Carmouze & Caumette, 1985 ; Caumette, 1985). La baie de Biétri (B) est une baie estuarienne urbaine. C'est probablement la baie la plus étudiée dans le milieu lagunaire ivoirien (cf. Arfi & Guiral, 1991). Elle peut être définie comme un milieu estuarien pollué. Enfin, la baie de Mopoyem (M) se situe vers l'extrémité ouest de la lagune Ebrié. Elle présente les caractéristiques d'un milieu oligohalin non pollué (Pagano & St-Jean, 1988).

Les expérimentations ont été effectuées en trois saisons, correspondant à des situations lagunaires les plus différentes possibles : saison d'étiage, saison des pluies, saison des crues (voir tableau 1.1) correspondant au calendrier suivant :

Expérimentations			
	Date	Saison lagunaire	Conductivité (mS cm ⁻¹)
B1.1	21-22 février 89	Saison d'étiage	44.1-45.9
B1.2	22-23 février 89	Saison d'étiage	44.1-45.9
A1.1	15-16 mars 89	Saison d'étiage	36.9
A1.2	16-17 mars 89	Saison d'étiage	36.9
M1.1	5-6 avril 89	Saison d'étiage	
M1.2	6-7 avril 89	Saison d'étiage	
B2.1	19-20 avril 89	Saison des pluies	48.3-50.4
B2.2	20-21 avril 89	Saison des pluies	50.3-50.6
M2	24-25 mai 89	Saison des pluies	7.2-12.8
A2	31 mai-1 juin 89	Saison des pluies	27.4-28.7
B3	1-2 novembre 89	Saison des crues	6.3-7.1
A3	9-10 novembre 89	Saison des crues	2.3-3.0
M3	29-30 novembre 89	Saison des crues ¹	5.7-6.7

1 : NB : le terme saison des crues n'a pas de sens pour la baie de Mopoyem qui n'est pas affectée par la crue du Comoé. Celui-ci est employé par commodité dans le texte.

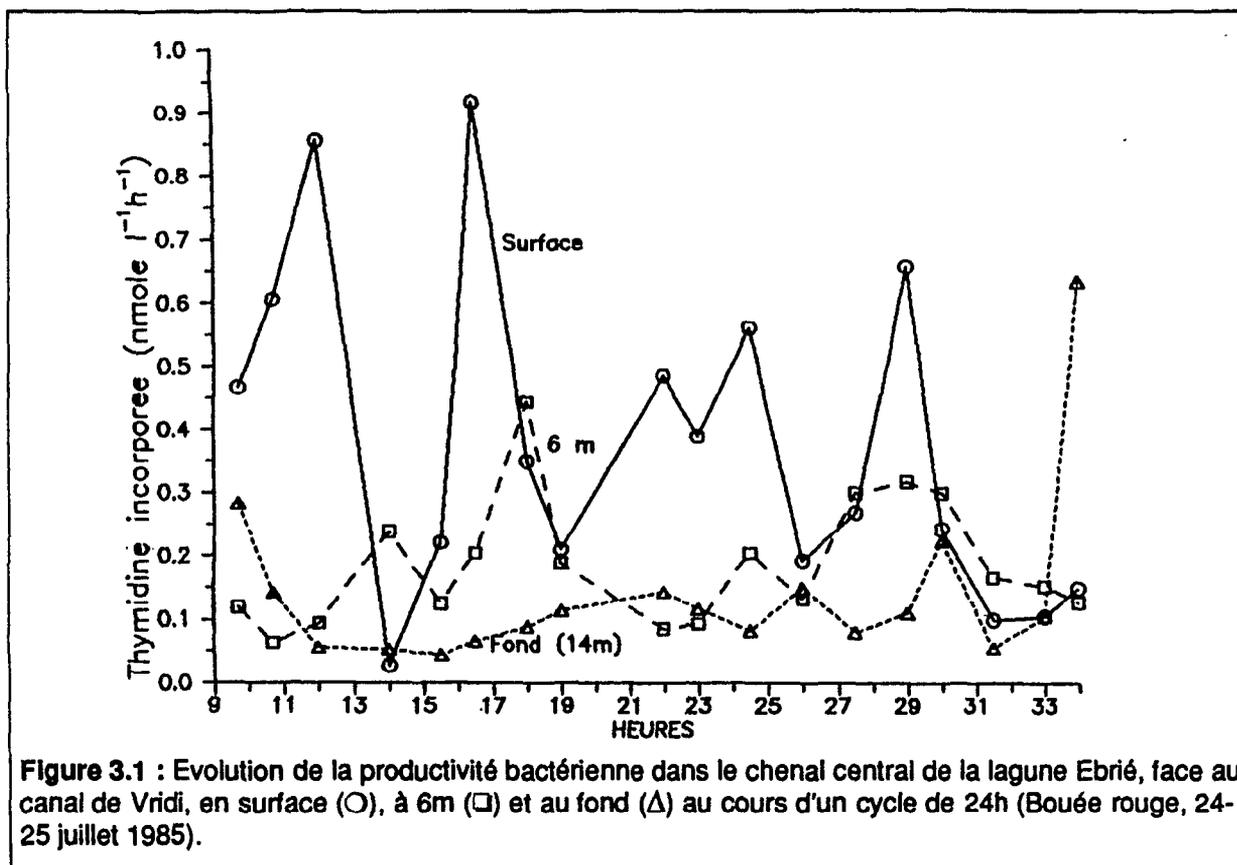


Figure 3.1 : Evolution de la productivité bactérienne dans le chenal central de la lagune Ebrié, face au canal de Vridi, en surface (O), à 6m (□) et au fond (Δ) au cours d'un cycle de 24h (Bouée rouge, 24-25 juillet 1985).

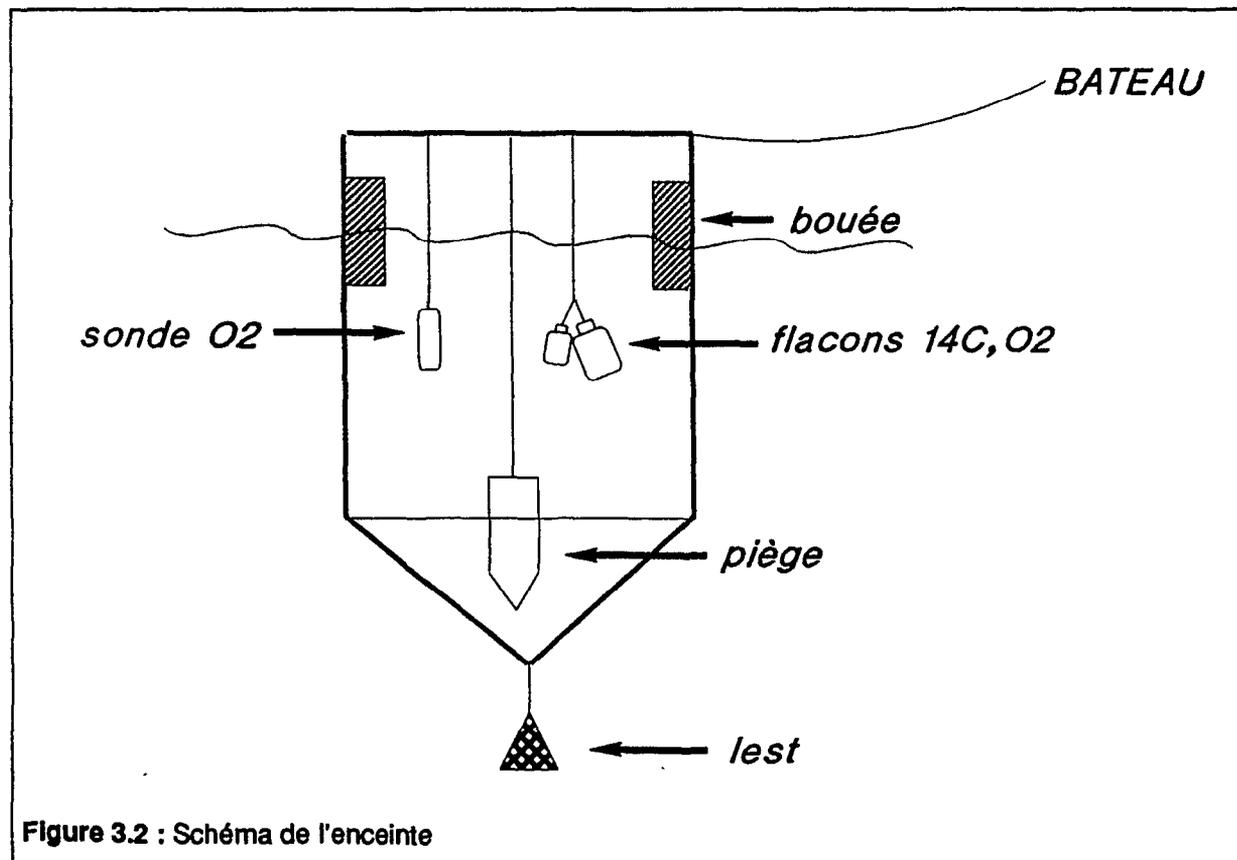


Figure 3.2 : Schéma de l'enceinte

2. Description de l'enceinte - mise en place

L'enceinte expérimentale est constituée d'une armature cylindrique en tubes d'acier inoxydable recouverte par un film polyéthylène transparent (de 0,2 mm d'épaisseur) fermé à son extrémité inférieure par une corde supportant un lest de 15 kg (fig. 3.2). L'ensemble est maintenu en surface par des bouées. L'enceinte, d'un diamètre de 120 cm et d'une profondeur de 130 cm, emprisonnant une masse d'eau d'environ 1500 litres, est fixé au bateau laboratoire par un filin. Un film neuf est utilisé à chaque expérimentation. Avant sa fermeture, l'enceinte est rincée avec l'eau du milieu prélevée à l'aide d'une pompe. Le dispositif est mis en place le soir vers 22 h (coucher du soleil vers 18 h) pour y inclure le zooplancton migrant en surface de nuit. L'enceinte est remplie à l'aide d'une pompe immergée à fort débit (7 m³/h), prélevant l'eau du milieu à 50 cm de profondeur. L'ensemble est laissé au repos une nuit afin de laisser sédimenter le matériel vivant éventuellement abîmé par le pompage. Les prélèvements et la mise en place du piège débutent à 6 h le lendemain (lever du soleil).

3. Paramètres étudiés - méthodes

a. Paramètres biologiques

Dans l'enceinte, les biomasses des communautés bactériennes libres et fixées (retenues sur membrane de porosité 3 µm) ont été distinguées. A l'extérieur de l'enceinte seule la biomasse totale (libre + fixée) a été déterminée (chap. 2, A - Biomasse).

La production de biomasse bactérienne par les communautés libres et fixées a été distinguée, dans l'enceinte et à l'extérieur de celle-ci, par la mesure de l'incorporation de thymidine suivie du fractionnement sur membrane de porosité 3 µm. Au moins un étalonnage thymidine/production de biomasse était réalisé au cours de chaque cycle (chap. 2. B - Production).

L'activité de prédation du nanoplancton hétérotrophe sur les bactéries a été déterminée uniquement dans l'enceinte par utilisation d'inhibiteurs des procaryotes (chap. 2. C - Prédation).

La biomasse phytoplanctonique a été déterminée par dosage des pigments chlorophylliens dans l'enceinte (fraction totale) et à l'extérieur (par classes de taille). La production primaire a été estimée par la mesure de la production autotrophe d'oxygène (dans l'enceinte) et la fixation autotrophe de ¹⁴CO₂ (dans l'enceinte et à l'extérieur, cf. chap.2. E).

Le carbone et l'azote particuliers (Cp Np) ont été déterminés dans l'enceinte (total) et à l'extérieur (par classes de taille cf. chap.2. E).

La respiration totale de la communauté planctonique a été déterminée uniquement dans l'enceinte, par la mesure de la consommation d'oxygène à l'obscurité (chap.2. E).

Les flux de sédimentation du Cp, du Np, du phytoplancton et des bactéries ont été déterminés en disposant un piège cylindro-conique de 60 cm² de section et 40 cm de hauteur à 90 cm de profondeur dans l'enceinte pour les 13 cycles et à l'extérieur pour les trois derniers cycles. Afin de prévenir la croissance bactérienne dans les pièges, chaque réceptacle recevait 0,5 litre d'une solution stérile (filtrée sur membrane de porosité 0,2 µm) de HgCl₂ (100 µg l⁻¹). Celle-ci était sursalée (NaCl 10%) afin d'empêcher la diffusion du poison. L'examen visuel a montré que la barrière de densité n'empêchait pas la pénétration du matériel sédimenté dans le gradient de NaCl empoisonné. Au bout de 24 heures, le piège était remonté, l'eau sus-jacente pipetée et la suspension résiduelle

homogénéisée par agitation dans un bécher. Des sous-échantillons étaient alors collectés pour les mesures d'incorporation de thymidine, de biomasse bactérienne, de chlorophylle et d'azote et carbone particulaire. L'incorporation de thymidine, en restant toujours insignifiante, a montré que l'inhibition des activités bactériennes était complète. Un seul piège était utilisé à la fois, toutefois la similitude des valeurs obtenues d'un jour à l'autre au cours de trois cycles de 48 heures suggère une bonne reproductibilité des mesures de flux de sédimentation.

Au cours des cinq derniers cycles (A2, A3, B3, M2, M3) l'abondance du zooplancton a été déterminée à l'extérieur de l'enceinte au point de prélèvement (0,5 m de profondeur) toutes les 2 heures. Dans l'enceinte, seule l'abondance initiale a été déterminée, immédiatement après le remplissage. L'eau était prélevée pendant 1 minute à l'aide d'une pompe centrifuge à fort débit (7 m³/h). Le tuyau de sortie était disposé au-dessus d'un filet conique de 63 µm de maille dont l'extrémité inférieure était fermée par un flacon collecteur. Seuls les organismes les plus abondants ont été dénombrés : *Acartia*, *Nauplii* d'*Acartia* et Rotifères.

b. Paramètres physiques et chimiques

L'évolution de la conductivité était suivie en continu à l'extérieur de l'enceinte. La température et la concentration en oxygène dissous étaient enregistrés en continu dans l'enceinte (sonde YSI). Toutes les 2 ou 3 h un dosage de l'oxygène dissous était effectué par la méthode de Winkler (to respiration et production). Le rayonnement global incident était enregistré en continu à l'aide d'un pyranomètre et des profils de pénétration lumineuse de l'énergie photosynthétiquement active (PAR) étaient effectués périodiquement dans l'enceinte et à l'extérieur.

4. Echantillonnage

a. Fréquence

Au cours des quatre premiers cycles (B1, B2, A1, M1), les paramètres ont été déterminés exclusivement dans l'enceinte, pendant 48 h, avec un pas d'échantillonnage de 3 heures. Les cinq cycles suivants ont été étudiés pendant 24 h, avec un pas d'échantillonnage ramené à 2 h, à l'intérieur et à l'extérieur de l'enceinte.

b. Prélèvements

Deux prélèvements sont successivement effectués à l'aide d'une bouteille de 2 litres Niskin *General Oceanics* verticale, intégrant une colonne d'eau de 10 à 60 cm de profondeur. Les prélèvements sont homogénéisés dans deux béciers en verre avant leur répartition pour les différentes mesures. Le deuxième prélèvement ne sert qu'à effectuer un réplicat d'incorporation de thymidine afin d'estimer la variabilité horizontale dans l'enceinte. La différence moyenne entre les duplicats réalisés sur ces deux prélèvements est de 5%. Elle est proche de la différence moyenne entre duplicats effectués sur un même prélèvement. L'enceinte est donc homogène horizontalement pour la tranche d'eau étudiée.

Les échantillons pour la détermination de la production d'oxygène et la respiration sont prélevés à l'aide d'une bouteille Niskin *General Oceanics* de 5 litres montée horizontalement afin de minimiser les biais créés par la stratification verticale d'oxygène très marquée en lagune et dans l'enceinte.

IV. RESULTATS, DISCUSSION

1. Variations spatiales et saisonnières

Les valeurs moyennes journalières en sub-surface dans l'enceinte et dans l'eau libre environnante sont représentées sur les tableaux 3.1 et 3.2. Lorsque les paramètres ont été suivis simultanément à l'extérieur et à l'intérieur de l'enceinte (5 derniers cycles) les moyennes se sont révélées comparables.

Tableau 3.1 : Valeurs moyennes des principaux paramètres déterminés à l'extérieur de l'enceinte

	CHL _a μg l ⁻¹	Pigm. μg l ⁻¹	Incorporation de thymidine			Abond. Bact. Totale 10 ⁹ cel.l ⁻¹	% Thym. < 3 μm	Thym/Cellule Totale 10 ⁻²¹ mol h ⁻¹	
			Totale nmol l ⁻¹ h ⁻¹	Libre	Fixée				
A1.1	a	22	24	nd	nd	nd	nd	nd	
	b	3	2						
	c	11	9						
A2		27	34	0.79	0.74	0.06	11.6	93.1	68
		5	4	0.24	0.22	0.05	1.1	5.0	20
		18	13	31	30	94	9	5	29
A3		9	20	0.46	0.41	0.05	11.6	88.6	40
		8	6	0.07	0.06	0.03	0.9	6.3	5
		86	31	14	15	59	7	7	12
B1.1		82	88	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		8	9						
		9	10						
B2.1		141	175	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		20	14						
		14	8						
B3		47	124	1.72	1.27	0.45	23.9	73.9	73
		44	12	0.15	0.13	0.16	2.7	8.0	10
		94	10	9	10	35	11	11	13
M1.1		31	30	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		1	1						
		4	4						
M2		46	46	0.67	0.61	0.06	14.0	91.8	48
		11	11	0.10	0.09	0.05	1.1	6.5	7
		25	25	15	15	91	8	7	15
M3		11	26	0.61	0.51	0.10	13.5	83.4	46
		9	4	0.14	0.13	0.03	1.1	4.5	12
		85	17	23	25	29	8	5	25

a : Moyenne, b : Ecart-type ; c : Coefficient de variation (%)

Tableau 3.2 : Valeurs moyennes des principaux paramètres déterminés dans l'enceinte

CYCLE	CHL _a µg l ⁻¹	Pigments µg l ⁻¹	INCORP. DE THYMIDINE			ABONDANCE BACTERIENNE			RESP. µgO ₂ l ⁻¹ h ⁻¹	Cp µmol l ⁻¹	Np	
			Totale nmol l ⁻¹ h ⁻¹	Libre	Fixée	Totale 10 ⁹ cellules l ⁻¹	Libre	Fixée				
A1.1	a	21	24	0.73	0.67	0.06	10.5	8.8	1.7	62	93	15
	b	4	3	0.16	0.16	0.05	1.2	1.0	1.2	38	20	4
	c	19	15	22	23	82	11	12	67	61	22	27
A1.2		17	19	0.72	0.58	0.14	10.5	8.5	2.0	76	109	14
		3	3	0.13	0.09	0.05	0.9	0.5	0.7	26	25	3
		19	17	17	16	36	9	6	35	34	23	21
A2		24	28	0.91	0.85	0.05	11.6	10.8	0.8	40	74	14
		4	5	0.20	0.20	0.03	1.6	1.9	0.7	17	15	5
		16	17	22	23	60	14	18	84			
A3		11	22	0.32	0.27	0.05	8.3	5.5	2.8	23	160	25
		5	3	0.19	0.17	0.03	2.5	1.5	1.3	12	12	9
		46	13	61	65	53	29	26	47	52	7	38
B1.1		66	70	1.71	1.09	0.61	29.1	19.1	9.9	202	315	53
		12	14	0.54	0.40	0.21	1.1	1.1	1.9	41	30	10
		17	20	32	37	35	4	6	21	20	10	19
B1.2		49	55	1.62	0.96	0.66	28.3	18.6	9.7	196	308	66
		8	8	0.48	0.36	0.14	2.1	1.6	1.5	43	39	30
		16	15	30	37	21	7	9	17	22	13	45
B2.1		88	117	2.47	1.98	0.48	35.5	28.0	7.4	180	311	43
		18	24	0.27	0.27	0.11	3.0	5.2	5.3	32	26	8
		21	20	11	13	23	8	19	71	18	8	19
B2.2		79	104	2.66	2.24	0.43	36.2	29.9	6.3	162	352	44
		16	18	0.28	0.21	0.13	1.9	1.5	2.2	32	39	8
		20	18	11	10	31	5	5	35	20	11	18
B3		40	112	1.23	0.88	0.35	19.2	11.7	7.5	180	575	70
		38	14	0.23	0.19	0.06	2.4	0.9	3.1	64	36	37
		94	12	18	22	18	12	8	41	36	6	54
M1.1		32	32	0.54	0.45	0.09	12.9	11.1	1.8	68	152	14
		2	2	0.12	0.12	0.04	0.5	0.4	0.3	8	11	6
		6	6	22	26	44	4	3	14	12	7	43
M1.2		29	29	0.48	0.38	0.10				79	161	13
		3	3	0.08	0.06	0.04				40	11	2
		9	9	17	14	37				51	7	15
M2		43	43	0.43	0.38	0.05	9.8	8.5	1.3	55	153	18
		8	8	0.10	0.08	0.03	0.9	1.0	0.3	20	13	3
		18	18	22	22	50	9	11	25	36	8	17
M3		8	22	0.44	0.35	0.10	10.1	7.0	3.2	39	182	30
		7	4	0.10	0.07	0.03	0.9	0.9	1.1	10	12	13
		82	17	23	21	35	9	13	35	26	7	43

a : Moyenne, b : Ecart-type, c : Coefficient de variation (%)

a. Biomasse photosynthétique et production primaire

Les valeurs moyennes journalières de chlorophylle a se situent dans la gamme des valeurs précédemment reportées pour les trois baies (Pagès *et al.* 1979 ; Carmouze & Caumette, 1985 ; Dufour, 1986). Les plus fortes valeurs (50 à 140 $\mu\text{g l}^{-1}$) sont trouvées en baie de Biétri, le plus eutrophe des trois sites. A Mopoyem, la chlorophylle a varie entre 10 et 46 $\mu\text{g l}^{-1}$. C'est en baie d'Abou-Abou que les valeurs sont les plus faibles (10 à 22 $\mu\text{g l}^{-1}$). Pour les trois sites, les valeurs sont maximales en début de saison des pluies, en accord avec l'évolution saisonnière reportée par Dufour (1984) dans la zone estuarienne.

La production primaire brute à l'extérieur de l'enceinte obéit aux mêmes tendances géographiques que la biomasse phytoplanctonique. Elle est maximale en baie de Biétri où les valeurs mesurées sont de 2,7 à 6,2 $\text{gC m}^{-2}\text{j}^{-1}$. En Baie de Mopoyem les valeurs déterminées sont de 0,7 à 2,4 $\text{gC m}^{-2}\text{j}^{-1}$ et en baie d'Abou-Abou de 0,5 à 1,9 $\text{gC m}^{-2}\text{j}^{-1}$. Ces valeurs sont du même ordre que celles déjà reportées pour les mêmes sites (Pagès *et al.* 1979 ; Pagès & Lemasson, 1981) sauf pour la baie de Biétri qui s'est considérablement eutrophisée depuis ces premières études.

La production primaire apparaît plus faible dans l'enceinte que dans le milieu environnant. L'étude des courbes production/lumière incidente cumulée montre que la pente dans l'enceinte est en moyenne 0,8 fois plus faible (écart-type 0,1 ; $n=14$) qu'à l'extérieur (fig. 3.3, Tab 3.3). L'ombrage provoqué par les bouées et la croissance sur le film de polyéthylène sont probablement responsables d'une diminution de l'énergie lumineuse disponible du même ordre.

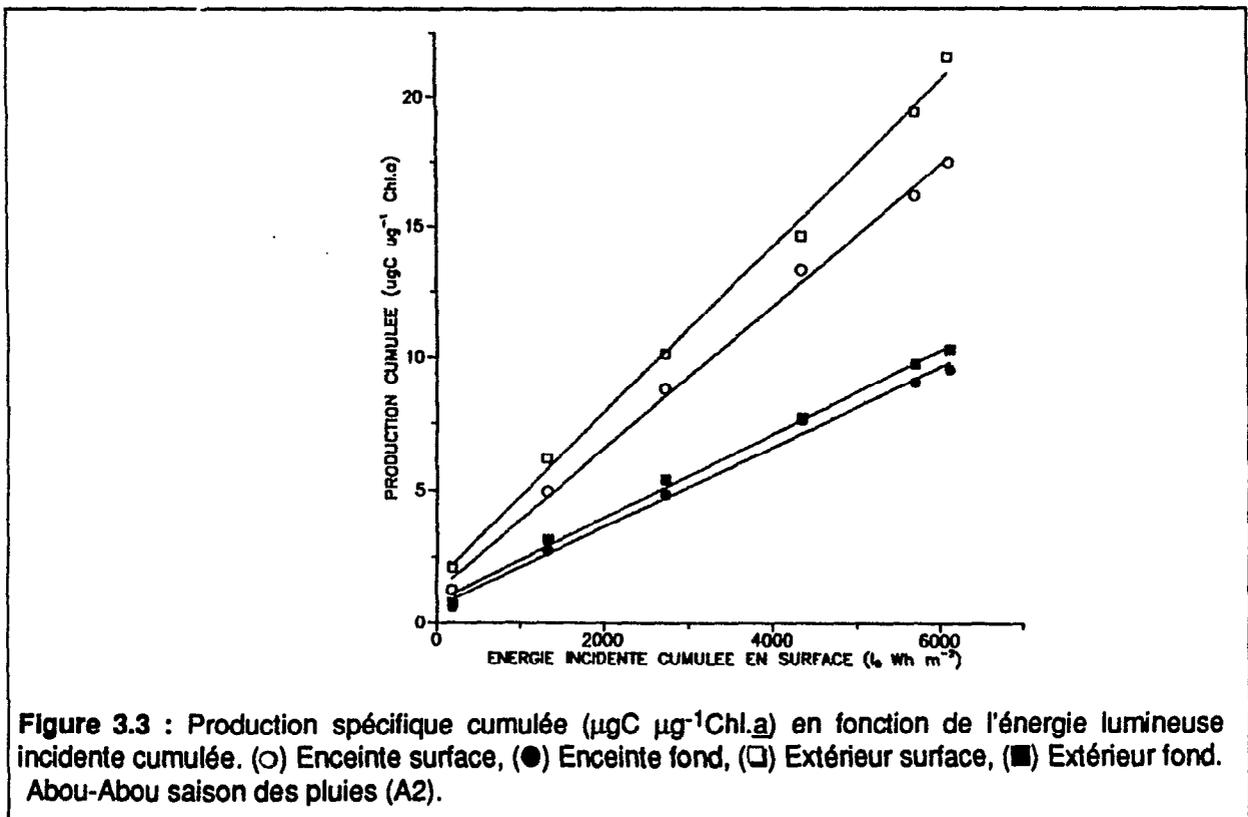


Tableau 3.3 : Régressions entre productions cumulées (mgC/mg Chl.a) et énergie incidente cumulée (Wh.m⁻²).

CYCLE			R	N	Ordonnée Origine	PENTE (x1000)	pente Enceinte /pente Extérieur
A1.1	Enceinte	Surface	0.991	4	5.25	5.90	0.69
A1.1	Extérieur	Surface	0.998	4	5.94	8.55	
A2	Enceinte	Surface	0.998	6	1.18	2.70	0.85
A2	Extérieur	Surface	0.999	6	1.61	3.16	
B1.1	Enceinte	Surface	0.999	4	0.50	5.38	0.95
B1.1	Extérieur	Surface	0.994	4	2.11	5.63	
B2.1	Enceinte	Surface	0.997	4	2.52	4.90	1.03
B2.1	Extérieur	Surface	0.998	4	1.50	4.76	
B3	Enceinte	Surface	0.999	6	0.61	9.39	0.75
B3	Extérieur	Surface	0.999	6	4.31	12.60	
M1.1	Enceinte	Surface	0.999	4	0.35	8.62	0.89
M1.1	Extérieur	Surface	0.998	4	0.73	9.69	
M2	Enceinte	Surface	0.995	6	2.94	1.45	0.65
M2	Extérieur	Surface	0.996	6	3.20	2.24	
M3	Enceinte	Surface	0.997	6	6.02	9.43	0.75
M3	Extérieur	Surface	0.993	6	7.71	12.60	
A1.1	Enceinte	Fond	0.988	4	2.69	4.07	0.78
A1.1	Extérieur	Fond	0.995	4	2.31	5.20	
A2	Enceinte	Fond	0.997	6	0.60	1.51	0.95
A2	Extérieur	Fond	0.998	6	0.79	1.59	
B2.1	Enceinte	Fond	0.996	4	0.03	1.67	1.03
B2.1	Extérieur	Fond	0.997	4	0.49	1.62	
M1.1	Enceinte	Fond	0.999	4	-0.07	4.50	0.72
M1.1	Extérieur	Fond	0.999	4	-0.02	6.21	
M2	Enceinte	Fond	0.996	6	1.43	1.17	0.70
M2	Extérieur	Fond	0.995	6	1.63	1.67	
						Moyenne	0.83
						Ecart-type	0.13

b. Biomasse bactérienne et incorporation de thymidine

b.1. Biomasse et activité totales

Abondance cellulaire

Dans l'enceinte, l'abondance bactérienne totale varie de 19 à 36 10⁶ cellules ml⁻¹ en Baie de Biétri, de 8 à 12 10⁶ cellules ml⁻¹ à Abou-Abou et de 10 à 13 10⁶ cellules ml⁻¹ à Mopoyem. Les abondances totales moyennes sont comparables à l'extérieur. Ces trois gammes de valeurs sont situées dans les valeurs élevées de la littérature. Aux trois sites étudiés, les valeurs maximales sont observées en saison d'étiage. Dans les deux sites estuariens, les minima sont retrouvés en saison des crues alors qu'en baie de Mopoyem les valeurs obtenues en saison des pluies et en saison des crues ne sont pas significativement différentes. Cette similitude est logique dans la mesure où les crues du Comoé n'intéressent pas la région de Mopoyem.

Volume cellulaire moyen

Au cours de chacun des cycles (à l'exception de M1) les volumes cellulaires moyens ont été déterminés sur le peuplement bactérien total et libre. Des différences significatives entre volumes des bactéries totales (libres et fixées) et libres n'ont été mises en évidence que pour les trois derniers cycles (les trois baies en saison des crues) et en baie de Biétri en saison d'étiage (Tab. 3.4A).

Pour ces quatre cas le volume moyen des bactéries fixées a été déterminé de la manière suivante :

$$V.\text{fix} = (V.\text{tot} - F.\text{lib} \times V.\text{lib})/F.\text{fix}$$

Avec :

V.fix, V.tot, V.lib volumes moyens des bactéries fixées, totales et libres

F.lib, F.fix : fractions des abondances fixée et libre

Pour les autres cycles la moyenne des volumes moyens libres et totaux a été utilisée indifféremment pour les bactéries libres et fixées, les différences n'étant pas significatives.

Les volumes cellulaires moyens sont par ailleurs significativement plus élevés en baie de Biétri qu'aux deux autres sites.

Sur les six morphologies cellulaires identifiables en microscopie (voir chap.2, fig. 2.1) les formes les plus abondantes sont toujours les coccoïdes (35-45% du total) et les bâtonnets (36-46%) quels que soient le site et la saison (Tab. 3.4B, exemple en fig. 3.4bis). Les cocci représentent en moyenne 9 à 14% du total. Les formes C peu représentées dans les baies estuariennes en saison sèche et en saison des pluies atteignent environ 10% du total en saison des crues (cf. fig. 2.2). En baie de Mopoyem cette proportion est retrouvée en saison des pluies et des crues. Ces formes C pourraient donc être caractéristiques des eaux à caractère continental. Le volume moyen plus élevé en baie de Biétri semble essentiellement à attribuer à une proportion plus importante de filaments de volume moyen élevé (Tab. 3.4B) ainsi qu'à une taille moyenne plus élevée pour les bâtonnets.

Tableau 3.4A : Biovolumes bactériens moyens dans l'enceinte

CYCLE	HEURE	BIOVOLUME MOYEN (μm^3)				MOYENNE			DIFFERENCE ^a Total/Libre
		Total photo 1	Total photo 2	Libre photo 1	Libre photo 2	Total	Libre	Total et libre	
A1.1	12	0.114	0.108	0.116		0.111	0.116		
A1.1	18	0.105	0.124	0.112		0.115	0.112		
A1.1	6	0.096	0.108	0.088	0.095	0.102	0.092		
A1.2	12	0.131	0.088	0.09		0.110	0.090		
A1.2	21	0.100	0.125	0.121	0.119	0.113	0.120		
A1.2	6	0.121	0.117	0.122		0.119	0.122		
			moyenne			0.111	0.109	0.110	0.810
			écart-type			0.006	0.014		NS
			N			6	6		
A2	6	0.072	0.112	0.111	0.102	0.092	0.107		
A2	12	0.074	0.093	0.113	0.110	0.084	0.112		
A2	14	0.089	0.091	0.103	0.091	0.090	0.097		
A2	20	0.088	0.105	0.109	0.086	0.097	0.098		
A2	24	0.096	0.099	0.105	0.100	0.098	0.103		
A2	4	0.132	0.113	0.115		0.123	0.115		
			moyenne			0.097	0.105	0.101	0.109
			écart-type			0.013	0.007		NS
			N			6	6		
A3	10	0.124	0.124	0.111	0.102	0.124	0.107		
A3	14	0.122	0.105	0.103		0.114	0.103		
A3	20	0.119	0.109	0.090	0.098	0.114	0.094		
A3	0	0.098	0.124	0.089	0.105	0.111	0.097		
A3	2	0.115	0.095	0.108	0.098	0.105	0.103		
			moyenne			0.114	0.101		0.021
			écart-type			0.007	0.005		★
			N			5	5		
B1.1	9	0.194	0.11	0.121	0.135	0.152	0.128		
B1.1	12	0.123	0.169	0.105		0.146	0.105		
B1.1	15			0.118	0.119		0.119		
B1.1	24	0.139	0.127	0.106	0.101	0.133	0.104		
B1.2	6	0.11	0.127	0.097	0.113	0.119	0.105		
B1.2	18	0.13	0.109	0.115	0.098	0.120	0.107		
			moyenne			0.134	0.111		0.036
			écart-type			0.015	0.01		★
			N			5	6		

^a : Test non paramétrique de Mann-Whitney. ★★★ : P<0.001, ★★ : P<0.01, ★ : P<0.05, NS : non significative

Tableau 3.4A : Biovolumes bactériens moyens dans l'enceinte (suite)

CYCLE	HEURE	BIOVOLUME MOYEN (μm^3)				MOYENNE			DIFFERENCE Total/Libre
		Total photo 1	Total photo 2	Libre photo 1	Libre photo 2	Total	Libre	Total et libre	
B2.1	12	0.134	0.122	0.127	0.116	0.128	0.122		
B2.1	15	0.111	0.121	0.092	0.124	0.116	0.108		
B2.1	24	0.123	0.118	0.12	0.112	0.121	0.116		
B2.2	12	0.12	0.124	0.117	0.105	0.122	0.111		
B2.2	24	0.137	0.122	0.111	0.114	0.130	0.113		
B2.2	6	0.113	0.13	0.125		0.122	0.125		
			moyenne			0.123	0.116	0.119	0.127
			écart-type			0.005	0.007		NS
			N			6	6		
B3	10	0.135	0.125	0.110	0.117	0.130	0.114		
B3	14	0.141	0.129	0.114	0.133	0.135	0.124		
B3	18	0.134	0.097			0.116			
B3	20			0.108	0.105		0.107		
B3	22	0.137	0.122	0.116	0.101	0.130	0.109		
B3	2	0.124	0.139	0.114	0.123	0.132	0.119		
			moyenne			0.128	0.114		0.030
			écart-type			0.007	0.007		★
			N			5	5		
M2	6	0.144	0.114	0.109	0.095	0.129	0.102		
M2	14	0.111	0.102	0.101	0.084	0.107	0.093		
M2	18	0.109	0.083	0.098	0.109	0.096	0.104		
M2	20	0.116	0.097	0.1	0.093	0.107	0.097		
M2	4	0.098	0.134	0.099	0.104	0.116	0.102		
			moyenne			0.111	0.099	0.105	0.209
			écart-type			0.012	0.005		NS
			N			5	5		
M3	6	0.108	0.098	0.073	0.088	0.103	0.081		
M3	8	0.097	0.097	0.091	0.078	0.097	0.085		
M3	12	0.091	0.100	0.091	0.078	0.096	0.085		
M3	20	0.097	0.087	0.083	0.074	0.092	0.079		
M3	2	0.081	0.100	0.076		0.091	0.076		
			moyenne			0.096	0.081		0.012
			écart-type			0.005	0.004		★
			N			5	5		

^a : Test non paramétrique de Mann-Whitney. ★★★ : P<0.001, ★★ : P<0.01, ★ : P<0.05, NS : non significative

Tableau 3.4B : Contribution des différents types cellulaires à l'effectif (% eff.) et au volume (% vol.) total.

	cocci	coccoïdes	bâtonnets	filaments	formes C	total
Longueur ^a	0.52 ± 0.04	0.62 ± 0.02	0.94 ± 0.12	6.71 ± 3.56	1.78 ± 0.40	0.87 ± 0.15
largeur ^a	0.50 ± 0.04	0.48 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.24 ± 0.04	0.36 ± 0.04	0.44 ± 0.02
Volume ^a	0.083 ± 0.018	0.097 ± 0.010	0.115 ± 0.022	0.281 ± 0.124	0.195 ± 0.052	0.110 ± 0.012
A1 % eff.	8.8	45.2	45.4	0.0	0.6	786 ^b
A1 % vol.	7.2	38.7	52.8	0.0	1.3	
A2 % eff.	12.3	38.2	48.8	0.0	0.7	902
A2 % vol.	12.9	36.2	49.7	0.0	1.1	
A3 % eff.	19.5	33.7	36.2	0.6	10.0	632
A3 % vol.	9.6	33.8	41.1	1.3	14.2	
B1 % eff.	9.7	41.1	46.0	2.2	0.9	739
B1 % vol.	4.5	33.5	56.0	4.5	1.5	
B2 % eff.	8.6	40.8	48.0	1.9	0.6	1139
B2 % vol.	7.1	33.0	55.0	3.2	1.8	
B3 % eff.	11.4	34.9	38.5	6.7	8.5	639
B3 % vol.	7.6	28.3	32.9	17.6	13.5	
M2 % eff.	11.2	36.4	42.3	0.9	9.1	854
M2 % vol.	8.1	32.2	40.9	1.6	17.1	
M3 % eff.	13.6	35.7	39.1	1.1	10.5	617
M3 % vol.	10.5	28.5	35.7	5.8	19.6	

a : moyennes respectives (± écart-type) des longueur (L en µm), largeur (l en µm) et volume (µm³) pour chaque type cellulaire

b : nombre total de cellules mesurées pour chaque cycle

cocci : L/l < 1,1, coccoïdes : L/l > 1,1 et < 1,5, bâtonnets : L/l > 1,5, filaments : L/l > 10 et l < 0,3 µm, formes C : voir fig 2.1

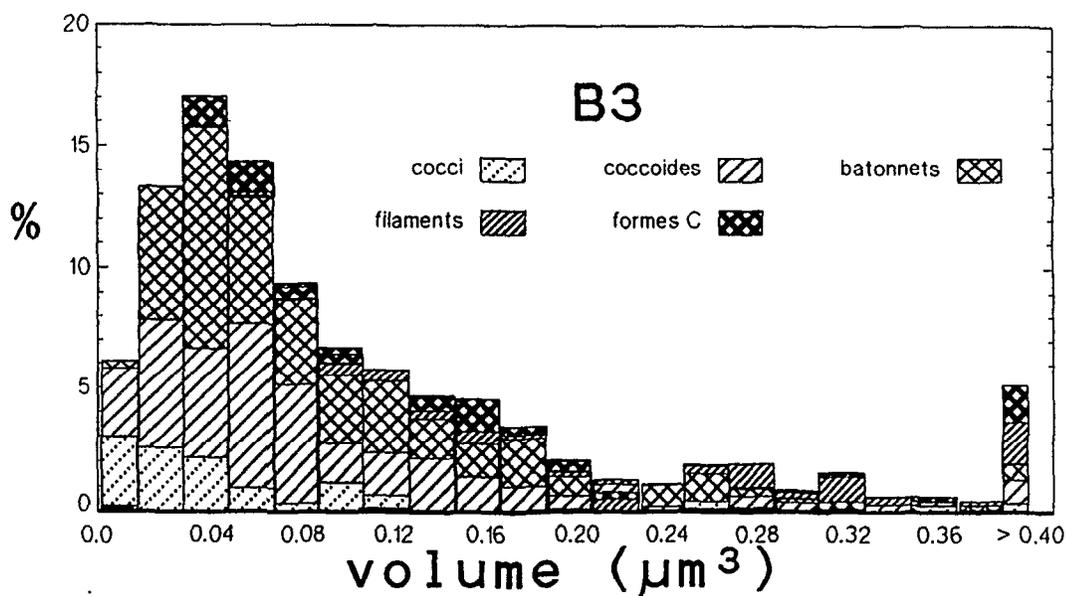


Figure 3.3bis : Contribution des différents types morphologiques bactériens à l'effectif total dans différentes classes de taille (Biétri saison des crues).

Activité totale

L'incorporation de thymidine dans le précipité TCA obéit aux mêmes tendances que la biomasse bactérienne. Elle est également plus élevée en baie de Biétri qu'aux deux autres sites. Les valeurs maximales pour les trois baies sont retrouvées en saison des pluies et les valeurs minimales en saison des crues (Tab. 3.1 et 3.2). Ces valeurs se situent également parmi les valeurs élevées de la littérature. Rappelons toutefois que la proportion du marquage dans l'ADN est faible et constante (19,6% du précipité TCA) dans les trois sites (cf. chap.2 thymidine).

b.2. Proportion de cellules et d'activité fixées

La proportion de bactéries fixées sur particules est plus importante en Baie de Biétri (19 à 38%) qu'aux deux autres sites (respectivement 7 à 32% et 13 à 31%, pour Abou-Abou et Mopoyem). Dans les trois baies, la proportion de cellules fixées est maximale en saison des crues et minimale en saison des pluies (Test non paramétrique de Mann-Whitney, Tab. 3.5). Ces valeurs importantes ne sont toutefois pas exceptionnelles pour les milieux estuariens et lagunaires généralement riches en matériel particulaire (Tab. 3.6) .

La proportion de l'activité d'incorporation attribuée aux bactéries fixées sur particules est également plus importante en Baie de Biétri (18 à 39%) qu'aux 2 autres sites (respectivement 6 à 20% et 12 à 21%, pour Abou-Abou et Mopoyem). Cette proportion est également maximale en saison des crues en baies d'Abou-Abou et Mopoyem (mais rappelons que celle-ci n'est pas influencée par la crue), toutefois ce maximum est moins prononcé (Tab. 3.5). En baie de Biétri, le maximum est observé en saison sèche. Les différences entre tendances saisonnières des proportions de biomasse et des proportions d'activité fixées sont attribuables à l'activité spécifique des bactéries fixées sur particules, minimale en saison des crues, comme on le verra plus loin.

Tableau 3.5 : Comparaison des proportions de biomasse et d'activité fixées par rapport au total dans l'enceinte. Signification des différences saisonnières par le test non-paramétrique de Mann-Whitney.

		% Cellules > 3 µm		
		A1 (18 ^a ±8 ^b)	A2 (7±5)	A3 (32±9)
% Thym. > 3 µm	A1 (14±8)	----	★★★	★★★
	A2 (6±4)	★★	----	★★★
	A3 (20±9)	NS	★★★	----
		% Cellules > 3 µm		
		B1 (34±5)	B2 (19±10)	B3 (38±10)
% Thym. > 3 µm	B1 (39±8)	----	★★★	NS
	B2 (18±5)	★★★	----	★★★
	B3 (29±4)	★★★	★★★	----
		% Cellules > 3 µm		
		M1 (14±2)	M2 (13±3)	M3 (31±9)
% Thym. > 3 µm	M1 (18±7)	----	NS	★
	M2 (12±5)	★★	----	★★★
	M3 (21±3)	NS	★★★	----

a : Moyenne sur les cycles journaliers ; b : Ecart-type

A : Abou-Abou, B : Biétri, M : Mopoyem ; 1 : saison sèche, 2 : saison des pluies, 3 : saison des crues
 ★ P<0,05 ; ★★ P<0,01 ; ★★★ P<0,001 ; NS non significatif

Tableau 3.6 : Contribution de la fraction fixée à l'abondance et l'activité bactériennes totales dans quelques milieux estuariens.

BIOMASSE FIXEE		ACTIVITE FIXEE	ACTIVITE SPECIFIQUE	SITE	REFERENCE
% du total		% du total	fixée/livre		
18	CD			Est. du St-Laurent, Canada	Painchaud, Terriault 1989
25-30	CD			eau douce	
0-24	CD			max. turbidité	
				eau de mer	
5-25	2 µm PPI			Est. de la Squamish River, Canada	Allbright <i>et al.</i> 1986
29	1 µm	59 Thym 1 µm		Est. de la Duplin River, USA	Griffith <i>et al.</i> 1990
		0 aa 1 µm			
	1 µm			Est. de la Fraser River, Canada	Bell & Allbright, 1981
1-7	CD	3-25 aa 3 µm	-3 <0.05	Est. de la Newport River, C.N. USA	Palumbo <i>et al.</i> 1984
				Est. Humber, UK	Goulder, 1977
56-94	CD	50-89 glu 3 µm	NS	été	
94-98	CD	96-99 glu 3 µm	NS	hiver	
3-8	CD			Kiel Fjord, RFA	Zimmerman, 1977
				Salt Marsh, C. Sud, USA	Wilson & Stevenson 1980
18-75	CD			été	
13-31	CD			hiver	
20-90	CD	63-99 INTRM	7-15	Salt Marsh, Palo Alto, Calif. USA	Harvey & Young, 1980
		80 glu 3 µm		Salt Marsh, Sapelo Island, Geor. USA	Hanson & Wiebe, 1977
				Est. de la York River, Virg., USA	Ducklow, 1982
40-90	CD			Stratifié	
10	CD			Déstratifié	
3-33	CD			Oosterchelde Basin, Pays-Bas	Laanbroek, Verplanke 1986
30	Tween			Aransas Pass, Tex., USA	Yoon & Rosson, 1990
				Mass., USA	Kirchman & Mitchell, 1982
1.5-6	CD	6-74 Thym 3 µm	-5 <0.01	Brackish Marsh	
1-7	CD	0-23 Thym 3 µm	-5 <0.01	Salt Marsh	
29	CD	20 Thym 3 µm	-0,7 NS	Hudson River Plume, N.Y., USA	Ducklow <i>et al.</i> 1982
		15-40 Thym 3 µm		Ria de Aross, Espagne	Roman, 1984

1 µm, 2 µm, 3 µm : Abondance des bactéries fixées obtenue par différence entre abondance totale et abondance des bactéries libres déterminée après filtration sur membranes de porosités 1 µm, 2 µm et 3 µm

CD : comptage direct sur les particules - INTRM : bactéries montrant une activité de transferts d'électrons

Thym : incorporation de thymidine - aa et glu : uptakes d'acides-amino et de glucose

Tween : Comptage après détachement au Tween 80

PPI : Comptage après défloculation au Pyrophosphate de sodium

b.3. Activités spécifiques par cellule dans la communauté totale

Les activités spécifiques d'incorporation par cellule pour la communauté totale sont globalement peu différentes pour les trois sites et aux trois saisons étudiés (entre 36 et 80 10^{-21} mole cellule $^{-1}h^{-1}$). Elles sont en moyenne similaires en Baies d'Abou-Abou et Biétri (environ 65 10^{-21} mole cellule $^{-1}h^{-1}$) et plus faibles à Mopoyem (44 10^{-21} mole cellule $^{-1}h^{-1}$, cf Tab. 3.8). Elles semblent peu varier avec la période d'étude, sauf en Baie d'Abou-Abou, où les activités spécifiques sont nettement plus faibles en saison des crues, en raison de l'importance accrue du peuplement fixé à faible activité spécifique à cette période.

Tableau 3.8 : Comparaison des activités spécifiques d'incorporation de thymidine par les communautés libres (<3 μ m) et fixées (>3 μ m). Test non paramétrique de Mann-Withney

CYCLE		INCORPORATION PAR CELLULE (10^{-21} mole cell $^{-1}h^{-1}$)			Différence entre libre et fixée P	
		TOTALE	< 3 μ m	>3 μ m		
A1	Moyenne	70.1	73.5	62.0	0.133	NS
	Ecart-type	16.3	19.6	45.8		
	n	17	17	17		
A2	Moyenne	79.5	80.2	66.8	0.383	NS
	Ecart-type	23.1	21.7	83.9		
	n	13	13	13		
A3	Moyenne	35.6	44.5	21.3	0.004	★★
	Ecart-type	14.1	21.7	9.9		
	n	13	13	13		
B1	Moyenne	58.7	55.0	67.3	0.100	NS
	Ecart-type	19.7	20.6	22.8		
	n	17	17	17		
B2	Moyenne	71.7	73.5	84.3	0.537	NS
	Ecart-type	7.2	9.5	44.5		
	n	17	17	17		
B3	Moyenne	64.3	74.8	50.8	0.003	★★
	Ecart-type	12.6	18.2	13.3		
	n	13	13	13		
M1	Moyenne	43.2	42.6	45.9	0.663	NS
	Ecart-type	10.3	12.8	13.7		
	n	3	3	3		
M2	Moyenne	44.4	43.5	40.6	0.505	NS
	Ecart-type	10.3	11.2	15.9		
	n	13	13	13		
M3	Moyenne	44.1	49.5	33.5	0.006	★★
	Ecart-type	10.1	10.2	13.1		
	n	13	13	13		

NS: Non significatif ; ★★★ : P<0.001 ; ★★ : P<0.01 ; ★ : P<0.05

L'utilisation du facteur de conversion commun aux trois sites (14800 gC/mole dans le TCA précipité ; cf chap.2 étalonnage) permet de déterminer les taux de croissance et les temps de génération moyens des assemblages bactériens :

$$\text{Taux de croissance : } \mu \text{ (h}^{-1}\text{)} = (\text{AS} \times 14800) / (\text{V} \times 2 \cdot 10^{-13})$$

$$\text{Temps de génération : } T_g \text{ (h)} = \text{Ln}(2) / \mu$$

Avec :

AS : activité spécifique d'incorporation de thymidine (mol cellule⁻¹h⁻¹)

V : volume cellulaire moyen μm^3 cellule⁻¹ et un rapport carbone/volume bactérien de $2 \cdot 10^{-13}\text{gC } \mu\text{m}^{-3}$

Les temps de génération bactériens sont tous inférieurs à la journée (Tab. 3.9) et sont donc situés dans les valeurs les plus faibles de la littérature, mêmes pour les milieux eutrophes.

Tableau 3.9 : Taux de croissance et temps de génération bactériens dans l'enceinte.

CYCLE	BIOVOLUME MOYEN			ACTIVITE SPECIFIQUE			TAUX DE CROISSANCE			TEMPS DE GENERATION		
	Total (μm^3)	Libre	Fixé	Total (10^{-21} mol cell ⁻¹ h ⁻¹)	Libre	Fixé	Total (h ⁻¹)	Libre	Fixé	Total (h)	Libre	Fixé
A1	0.110	0.110	0.110	70.1	73.5	62.0	0.047	0.049	0.042	14.7	14.0	16.6
A2	0.101	0.101	0.101	79.5	80.2	66.8	0.058	0.059	0.049	11.9	11.8	14.2
A3	0.114	0.101	0.137	35.6	44.5	21.3	0.023	0.033	0.012	30.0	21.3	60.2
B1	0.134	0.111	0.178	58.7	55.0	67.3	0.032	0.037	0.028	21.4	18.9	24.8
B2	0.119	0.119	0.119	71.7	73.5	84.3	0.045	0.046	0.052	15.5	15.2	13.2
B3	0.128	0.114	0.151	64.3	74.8	50.8	0.037	0.049	0.025	18.6	14.3	27.8
M1	0.105	0.105	0.105	43.2	42.6	45.9	0.030	0.030	0.032	22.8	23.1	21.4
M2	0.105	0.105	0.105	44.4	43.5	40.6	0.031	0.031	0.029	22.2	22.6	24.2
M3	0.096	0.081	0.129	44.1	49.5	33.5	0.034	0.045	0.019	20.4	15.3	36.1

Pour les cycles A1, A2, B2, M2 les biovolumes libres et fixés sont la moyenne des biovolumes libres et totaux car ils ne diffèrent pas significativement. Les volumes cellulaires moyens, non déterminés au cours du cycle M1, ont été arbitrairement supposés identiques à ceux de M2

b.4. Activités spécifiques par cellule des communautés libres et fixées

Les activités spécifiques des communautés libres et fixées sur particules ne sont pas significativement différentes en saison d'étiage et en saison des pluies. Par contre, aux trois sites étudiés, l'activité spécifique est significativement plus faible pour la communauté fixée que pour la communauté libre en saison des crues (cycles A3, B3, M3, test non paramétrique de Mann-Withney, Tab. 3.8).

Il semble donc que l'attachement sur particules ne constitue pas un avantage particulier dans les eaux superficielles des sites étudiés (les communautés présentes dans l'hypolimnion des zones profondes en Baies de Biétri et Abou-Abou montrent par contre une plus forte activité spécifique des bactéries fixées, voir chap.4 profils).

Ces résultats vont apparemment à l'encontre de la vision la plus répandue. Dans la plupart des milieux où les activités spécifiques des bactéries libres et fixées ont été distinguées, les résultats montrent une plus forte activité spécifique pour la microflore fixée (eaux marines oligotrophe, Bright & Fletcher, 1983a et b ; eaux côtières et estuaires : Griffith *et al.* 1990, Hodson *et al.*, 1981, Palumbo *et al.* 1984 ; eaux douces : Kirchman & Mitchell, 1982, Simon, 1985 voir également Tab. 3.6), bien qu'occasionnellement, ces différences ne soient pas significatives (Bell & Allbright, 1982 ; Bent & Goulder, 1981, Irriberi *et al.* 1990). L'activité spécifique plus élevée des communautés fixées est en général expliquée par une meilleure disponibilité nutritive sur les particules que dans l'eau environnante, les nutriments étant apportés par les particules elles-mêmes ou concentrés par adsorption.

Les différences avec ce qui est observé en lagune Ebrié peuvent avoir trois origines : la nature des particules, la richesse du milieu et la méthodologie employée.

- La nature des particules est évidemment très variable selon les milieux et les époques étudiés (origine organique : phytoplancton mort ou sénescent.. ou minérale : remise en suspension du sédiment, flocculats..). La richesse en composés organiques des particules en suspension et leur structure ont très probablement un effet important sur les activités microbiennes pouvant s'y développer (Wangersky, 1984). Ainsi, dans les milieux estuariens, la grande majorité des particules sont des flocculats (Eisma, 1986) qui ont probablement une richesse intrinsèque en matériel énergétique plus faible que le phytoplancton mort ou sénescent constituant l'essentiel du matériel particulaire en fin de bloom phytoplanctonique.

- La richesse du milieu est également un élément important. Dans une culture en batch de la microflore bactérienne naturelle d'une eau de mer débarrassée des prédateurs, Unanue *et al.* (1990) montrent que les bactéries fixées ont une activité spécifique d'incorporation de thymidine comparable à celle des bactéries libres en début de culture. En fin de phase exponentielle de croissance, lorsque les ressources nutritives deviennent limitantes dans l'eau libre, les bactéries fixées conservent cette activité plus longtemps que les bactéries libres. Dans un milieu où les ressources nutritives sont limitées, la fixation semble donc présenter un avantage qui n'est pas conservé en milieu riche. De manière comparable, Jeffrey & Paul (1988) ont montré que dans un milieu de culture carencé, la fraction fixée de *Vibrio proteolytica* montrait un taux de croissance supérieur à celui de la fraction libre.

Inversement un apport en peptone induisait un taux de croissance supérieur de la fraction libre de la microflore. Le plus faible taux de croissance de la fraction fixée était attribuée à la limitation de l'uptake, due à la plus faible surface disponible pour les échanges avec le milieu libre sur les cellules fixées.

- La méthodologie employée :

- (1) Dans de nombreuses études les activités libres et fixées sont distinguées par tamisage, alors que les biomasses fixées sont déterminées par comptage des cellules directement sur les particules visibles, en évaluant les effectifs fixés sur la surface cachée. Il est connu que cette dernière procédure sous-estime fortement les abondances bactériennes liées aux grosses particules, car certaines bactéries situées à l'intérieur des particules ne sont pas visibles (Velji & Allbright, 1985 ; Yoon & Rosson, 1990). La sous-estimation de la biomasse bactérienne fixée conduit alors à une surestimation de l'activité spécifique des cellules fixées.

- (2) La nature du substrat employé est importante. Ainsi, dans une étude portant sur 44 sites, marins, estuariens et limniques, Bell & Allbright (1981) reportent une activité spécifique des bactéries fixées supérieure à celle des bactéries libres lorsque des acides aminés sont utilisés comme traceurs d'activité et l'inverse avec du glucose. De plus, l'uptake par le phytoplancton de traceurs moins spécifiques des bactéries que la thymidine (amino-acides et glucose) peut conduire à une surestimation de l'activité hétérotrophe bactérienne dans les classes de tailles supérieures et donc à une surestimation de l'activité spécifique des bactéries fixées (Kirchman & Mitchell, 1982 ; Güde, 1988).

- (3) La nature de l'activité mesurée est également importante. Ainsi, par exemple, les activités exoenzymatiques sont plus importantes pour les communautés fixées (Hoppe, 1984 ; Herndl, 1990), toutefois les monomères libérés ne profitent pas exclusivement aux communautés fixées car ils diffusent rapidement dans l'eau libre environnante (Herndl, 1990).

Dans cette étude, l'emploi du tamisage pour les dénombrements de cellules et pour les mesures d'activités d'incorporation de thymidine (effectué en respectant les mêmes conditions de volume filtré et de dépression, voir chap. méthodes), permet de supposer qu'il n'existe pas de biais entre la détermination de l'activité et de la biomasse bactérienne de la fraction fixée du peuplement. Les résultats présentés ici, pour atypiques qu'ils soient, ne semblent donc pas résulter d'un artefact méthodologique. Si l'on admet comme Unanue *et al.* (1990) et Jeffrey & Paul (1988), que dans un milieu non limité en nutriments, la fixation ne représente pas un avantage trophique pour la communauté bactérienne, ces résultats renforcent l'idée d'une absence de limitation nutritive du bactérioplancton aux sites étudiés.

La décroissance des activités spécifiques des communautés fixées en saison des crues suggère que ces particules sont alors d'une nature probablement différente de celles rencontrées en saisons d'étiage et en saison des pluies. Lors des crues, les particules sont vraisemblablement en majorité apportées ou créées (par floculation) par les apports continentaux (Eisma, 1986). Les plus faibles activités spécifiques des communautés fixées sur ces particules peuvent signifier que ces

dernières ont été dégradées avant leur arrivée en lagune et/ou que les communautés fixées, d'origine allochtone, trouvent des conditions de croissance défavorables dans le milieu lagunaire.

b.5. Relation entre Cp détritique et abondance bactérienne

En utilisant le rapport carbone/chlorophylle phytoplanctonique de 30,7 et le rapport carbone/volume bactérien de $2 \cdot 10^{-13} \text{gC } \mu\text{m}^{-3}$ (chap. biomasse) il est possible de calculer les contributions phytoplanctoniques et bactériennes au carbone organique particulaire total. En retirant ces contributions, on obtient une estimation approchée du CP "détritique" (CPd, surestimée de la contribution du nanoplancton hétérotrophe) dans les échantillons étudiés. Au cours des cycles effectués en saisons d'étiage et de pluie, il existe une bonne corrélation entre bactéries fixées (BF) et CP total (CPT) d'une part et bactéries fixées et CP détritique (CPd) d'autre part (Fig. 3.4, Tab. 3.7). Les relations sont les suivantes (BF : 10^9 cellules l⁻¹, CPT et CPd : (mgC l⁻¹) :

$$\text{BF} = 1.39 (\pm 0.40) \text{ CPT} + 0.17 (\pm 1.29) \quad r = 0,798, n=9$$

$$\text{BF} = 2.43 (\pm 1.02) \text{ CPd} + 1.49 (\pm 1.34) \quad r = 0,668, n=8$$

Pour ces deux relations, les ordonnées à l'origine ne sont pas significativement différentes de zéro. On peut donc estimer directement les rapports BF/CPT = 1.36 et BF/CPd = 3.89 10^9 cellules mgC⁻¹ (Tab. 3.7).

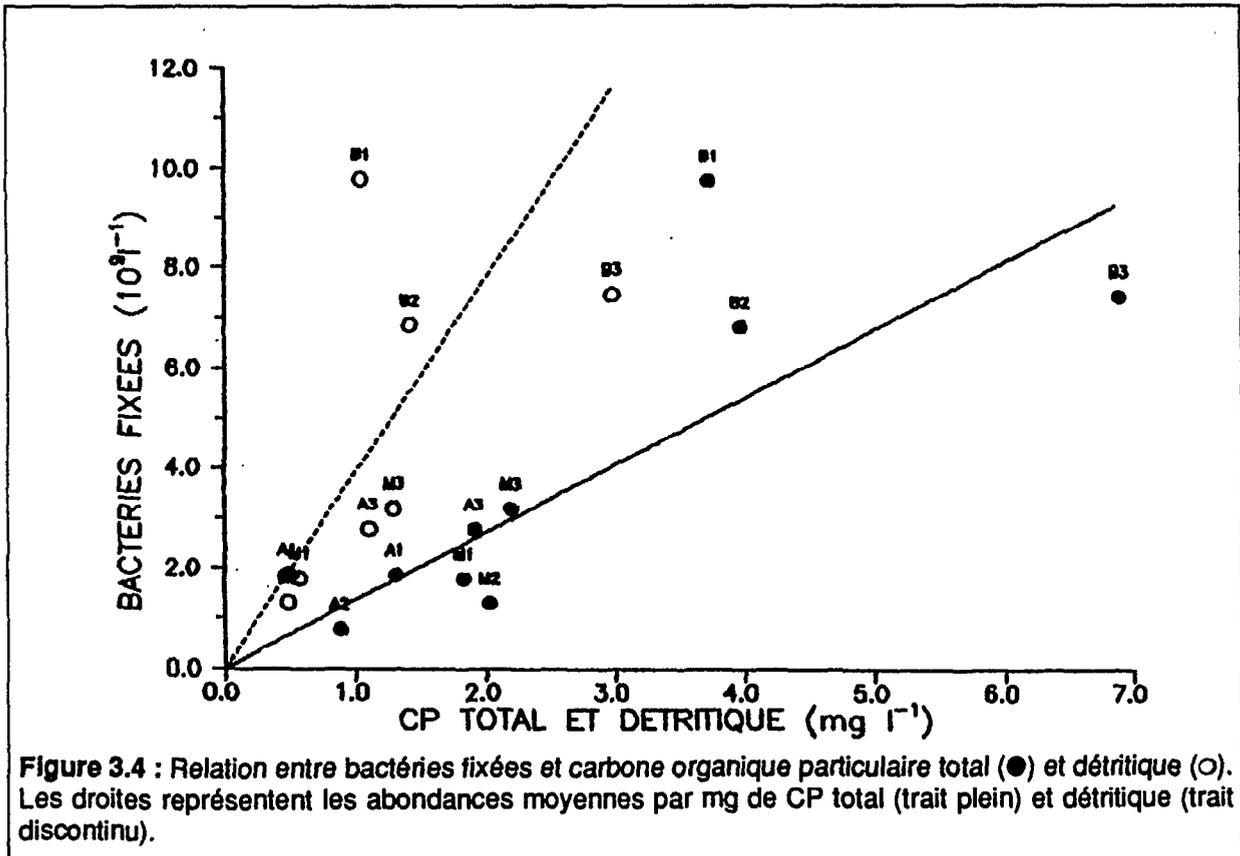


Tableau 3.7 : Relation entre carbone particulaire détritique et abondance des bactéries fixées dans l'enceinte.

	CP Total µgC l ⁻¹	CP détritique µgC l ⁻¹	Bactéries fixées 10 ⁹ cell l ⁻¹	Bactéries fixées 10 ⁹ cell mgCP ⁻¹	
				Détritique	Total
A1	1312 17 ^a	491 17	1,86 17	3.79	1.42
A2	887 13	-186 13	0,77 13	-	0.87
A3	1916 13	1108 13	2.78 13	2.51	1.45
B1	3738 17	1055 17	9.81 17	9.30	2.62
B2	3979 17	1428 17	6,86 17	4.80	1.72
B3	6897 13	2984 13	7.49 17	2.51	1.09
M1	1827 13	573 13	1,79 3	3.12	0.98
M2	2022 13	489 13	1,30 13	2.66	0.64
M3	2192 13	1297 13	3.19 13	2.46	1.46

^a : nombre de mesures

De nombreux travaux mentionnent également une relation significative entre bactéries fixées et concentration de matériel particulaire (Goulder, 1977 ; Bent & Goulder, 1981 ; Cammen & Walker, 1982 ; Fukami *et al.* 1983 ; Palumbo *et al.* 1984 ; Lovell & Konopka, 1985 ; Clark & joint, 1986 ; Lambroek & Verplanke, 1986 ; Painchaud & Terriault, 1989 ; Yoon & Rosson, 1990). Ces relations suggèrent que l'abondance des bactéries fixées est largement déterminée par la concentration en matériel particulaire, ce qui peut sembler une évidence, mais également que la densité des bactéries présentes sur les particules est probablement maximale. Celle-ci est probablement limitée par les surfaces disponibles sur les particules et est probablement largement déterminée par les processus de resuspension du matériel organique particulaire (Painchaud & Terriault, 1989). La colonisation du matériel particulaire par les bactéries apparaît extrêmement élevée au regard des valeurs disponibles dans la littérature. Ducklow *et al.* (1985) reportent au maximum 1.39 10⁹ cellules mgCp⁻¹ sur du

matériel collecté à l'aide de trappes à sédiments dans les eaux côtières de l'Atlantique ouest (moyenne $0.47 \cdot 10^9$ cellules mgCp^{-1}) et montrent que ce maximum est supérieur d'un ordre de grandeur aux concentrations bactériennes généralement reportées pour les sédiments superficiels (leur Tab. 8).

Les valeurs élevées obtenues ici dans la colonne d'eau suggèrent que le matériel particulaire présente un temps de résidence élevé comparé au temps de génération et/ou de colonisation par les bactéries. En entraînant un relatif épuisement des ressources disponibles sur les particules, cette forte concentration bactérienne expliquerait la faible activité spécifique des communautés fixées.

A partir des effectifs estimés par mg de CPd (tab. 3.7) et du volume cellulaire moyen (tab. 3.4), on peut estimer que les bactéries fixées représentent en moyenne 9% (5 à 22%) du carbone particulaire détritique dans les eaux de surface étudiées.

La séparation des communautés fixées et libres est essentielle dans les milieux turbides car elles n'ont vraisemblablement pas le même devenir. Ainsi, seules les bactéries fixées sur particules sont susceptibles d'être exportées par sédimentation. Ces flux ont été déterminés au cours de cette étude et sont traités plus loin.

c. Respiration et évolution nycthémerale de l'oxygène dissous

Les activités respiratoires dans l'enceinte, déterminées par la consommation d'oxygène à l'obscurité, sont maximales en baie de Biétri (moyenne $218 \mu\text{gO}_2\text{-l}^{-1}\text{h}^{-1}$) et peu différentes dans les baies d'Abou-Abou (moyenne $53 \mu\text{gO}_2\text{-l}^{-1}\text{h}^{-1}$) et de Mopoyem (moyenne $61 \mu\text{gO}_2\text{-l}^{-1}\text{h}^{-1}$). Ces activités respiratoires estimées en flacons sont en accord avec l'évolution nocturne de l'oxygène dissous directement mesurée dans l'enceinte (fig. 3.5) et ne semblent donc pas biaisées par le confinement en flacon. Les valeurs déterminées sont en accord avec celles reportées par Carmouze & Caumette (1985) de moyennes annuelles respectives $175 \mu\text{gO}_2\text{-l}^{-1}\text{h}^{-1}$ à Biétri, $40 \mu\text{gO}_2\text{-l}^{-1}\text{h}^{-1}$ à Abou-Abou et $65 \mu\text{gO}_2\text{-l}^{-1}\text{h}^{-1}$ à Tiegba (proche de Mopoyem, cf Fig. 1.1).

Les activités de production primaire et de respiration plus élevées entraînent des amplitudes journalières de la concentration en oxygène beaucoup plus marquées en baie de Biétri qu'aux deux autres sites (fig. 3.5). D'une manière générale l'évolution nycthémerale de l'oxygène dissous se caractérise par un maximum à 16-18 heures et un minimum à 6-7 heures.

Une régression multiple a permis d'attribuer un coefficient respiratoire au phytoplancton et aux bactéries (Chap. 2 : méthodes). En utilisant ces coefficients on peut estimer que les bactéries contribuent pour 50% à la respiration totale mesurée au niveau échantillonné.

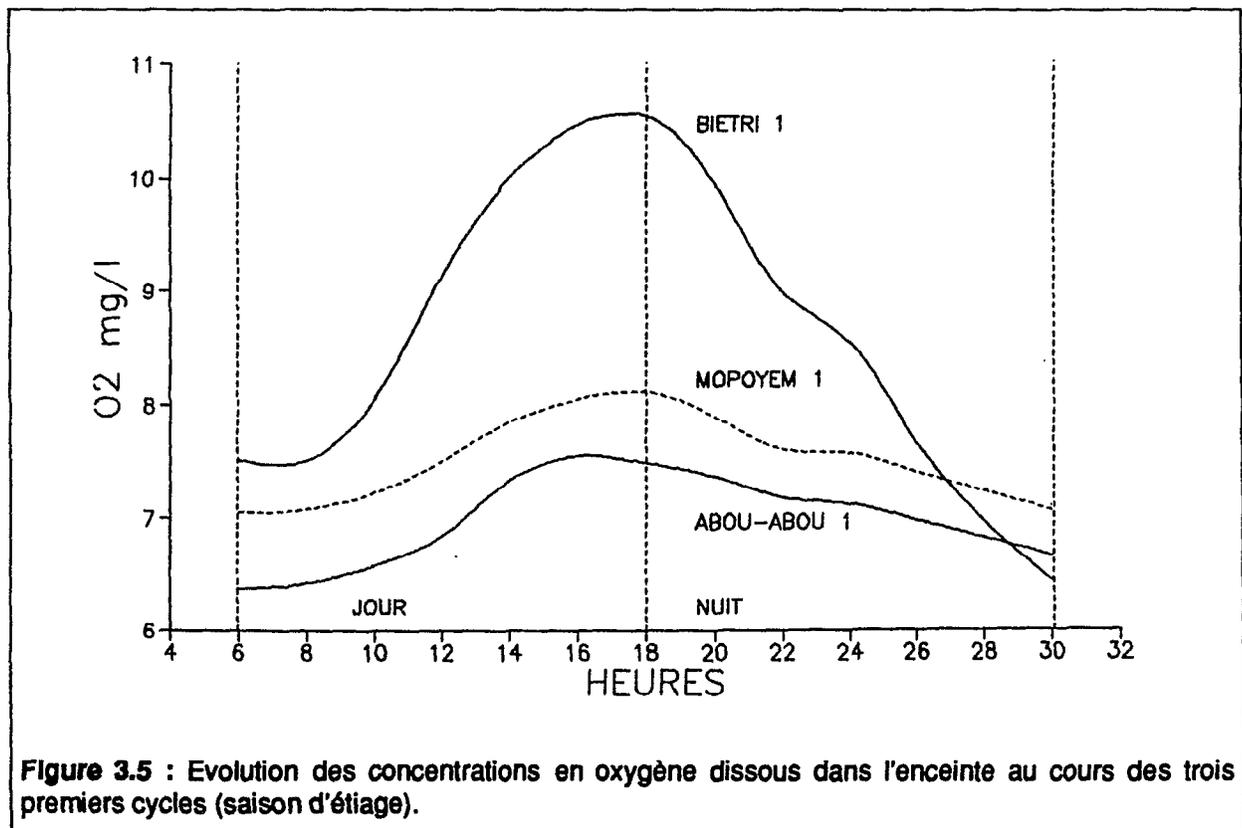


Figure 3.5 : Evolution des concentrations en oxygène dissous dans l'enceinte au cours des trois premiers cycles (saison d'étiage).

d. Sédimentation

L'intérêt principal de la mesure du flux de sédimentation est d'estimer l'exportation de la biomasse bactérienne fixée. Les questions que l'on peut se poser sont les suivantes :

- La production de la biomasse bactérienne fixée est-elle consommée dans la colonne d'eau ou bien profite-t-elle d'avantage à la communauté benthique?
- Quelle proportion des particules est-elle minéralisée avant leur dépôt sur le fond?

Les valeurs de sédimentation pour la colonne d'eau 0-90 cm sont représentées en Tab. 3.10A. Elles sont de l'ordre de 0,3 gC m⁻²j⁻¹ à Abou-Abou, 0,5-1 gC m⁻²j⁻¹ à Mopoyem et 1,3-1,7 gC m⁻²j⁻¹ à Biétri. L'exportation journalière par sédimentation représente 18 à 55% du Cp total (moyenne 36%) et 11 à 42% (moyenne 25%) du Np total (Tab. 3.10C).

La sédimentation des bactéries fixées est minimale en Baie d'Abou-Abou (0,5 à 1,3 10¹² cellules m⁻²j⁻¹), elle atteint 0,8 à 1,4 10¹² cellules m⁻²j⁻¹ à Mopoyem et 2,2 à 3,2 10¹² cellules m⁻²j⁻¹ à Biétri. En faisant abstraction des phénomènes éventuels d'attachement et de détachement qui n'ont pas été abordés au cours de cette étude, on peut estimer qu'en moyenne sur les trois sites, près de 55% de la biomasse bactérienne fixée sur particules dans la colonne d'eau 0-90 cm sont éliminés par sédimentation en une journée. Les valeurs les plus fortes sont obtenues pour chacun des trois sites en saison des pluies et les valeurs minimales en saison des crues. Ces sorties représentent en moyenne 71% de la production de biomasse bactérienne fixée sus-jacente (Tab. 3.10C). Bien que le rôle de la sédimentation dans l'exportation de la production bactérienne fixée ait été pressenti depuis longtemps (Pedros-Alio & Brock, 1983), peu de données sont disponibles sur les flux verticaux de la biomasse bactérienne fixée. Il semble cependant que dans les milieux où la proportion de bactéries fixée est élevée cette contribution soit importante. Ainsi, en utilisant des pièges dérivants, Ducklow *et al.* (1982) estiment que dans le panache de l'Hudson 3 à 67% de la production bactérienne totale est exportée par sédimentation.

La sédimentation apparaît être l'un des processus majeurs de disparition de la biomasse bactérienne fixée en lagune Ebrié. Il semble donc peu probable que la biomasse bactérienne produite sur les particules puisse profiter aux prédateurs présents dans la colonne d'eau dans les zones peu profondes, sans gradient de densité et en période d'agitation modérée. Cette biomasse bactérienne ne représente toutefois qu'une faible part du matériel total retrouvé dans les pièges (4,6% en terme de carbone et 11,4% de l'azote). Cette contribution bactérienne mineure en terme de carbone sédimenté a déjà été reportée par Ducklow *et al.* (1985) dans l'Atlantique côtier (en moyenne 1% du Cp total sédimenté, avec 10⁻¹⁵gC bactérie⁻¹) et Stroffek (1990) dans le lac Léman (1,2 à 4,6%) et le lac du Bourget (1,9 à 5% avec 1,21 10⁻¹³gC μm⁻³ bactérien).

Tableau 3.10 A : Sédimentation dans l'enceinte.
Valeurs exprimées par m² par jour.

CYCLE	CHL _a	PIGM.	BACT.	VOLUME MOYEN µm ³ /cell.	Cp Total mgC	Np Total mgN	C/N Total (g/g)	- BIOMASSE -		Cp DETR. mgC
	mg							mg	10 ¹²	
A1.2	1.4	2.0	0.54	0.057	272	19.8	13.8	60	12	201
A2	3.5	6.3	0.82	0.066	280	50.7	5.5	194	17	70
A3	1.2	2.2	1.27	0.063	779	131.7	5.9	68	25	686
B1.1	5.4	7.5	3.16	0.086	1314	137.5	9.6	229	81	1003
B1.2	6.4	8.7	2.44	0.072	1700	177.1	9.6	268	63	1369
B2.1	15.0	23.2	3.05	0.106	1507	194.4	7.8	713	72	722
B2.2	12.9	20.6	2.66	0.089	1427	176.5	8.1	633	63	731
B3	0.7	4.6	2.18	0.097	1133	126.3	9.0	142	52	939
M1.1	3.1	4.0	nd	nd	498	48.5	10.3	123	nd	375
M1.2	3.0	3.8	1.02	0.058	497	42.7	11.6	116	21	359
M2	5.2	7.0	1.36	0.053	1004	53.6	18.8	215	29	761
M3	0.2	1.9	0.75	0.066	566	44.2	12.8	59	16	491

Tableau 3.10 B : Valeurs moyennes dans la colonne d'eau sus-jacente.
Exprimées par m² pour la colonne d'eau 0-0,90m.

	Chl _a	Pigm.	Bactéries		Cp total mg	Np mg	C/N g/g	- Biomasse -			Cp détriti- que mgC	- Production -		Biom. phyto >3µm mgC	P. nette phyto >3µm mgC/j
	mg		mg	libres 10 ¹²				fixées 10 ¹²	phyto mgC	bact. fixées mgC		bact. libres mgC	nette phyto mgC/j		
A1.2	15	17	7.7	1.8	1181	176	6.7	531	40	168	442	603	45	229	296
A2	21	25	9.8	0.7	798	176	4.5	754	14	197	-167	159	16	199	48
A3	10	19	5.0	2.5	1724	311	5.5	577	50	100	997	211	17	294	122
B1.1	60	65	17.2	8.9	3406	666	5.1	1980	230	445	751	1279	196	1010	742
B1.2	43	49	16.8	8.7	3323	837	4.0	1517	225	433	1148	1296	210	774	751
B2.1	40	53	25.2	6.7	3357	542	6.2	1637	158	596	966	2511	154	677	1180
B2.2	36	47	26.9	5.7	3804	554	6.9	1432	134	635	1604	1637	137	592	769
B3	36	101	10.6	6.7	6207	881	7.0	3106	162	254	2685	2586	111	1966	1862
M1.1	29	29	10.0	1.6	1644	176	9.3	884	34	210	516	471	29	327	198
M1.2	26	26	10.0	1.6	1734	164	10.6	795	34	210	695	1093	31	294	459
M2	39	39	7.6	1.2	1819	227	8.0	1195	25	160	440	206	17	305	60
M3	8	20	6.3	2.9	1973	299	6.6	614	60	131	1167	366	31	248	168

Le phytoplancton, par contre, représente une part importante du matériel sédimenté. Si l'on utilise le rapport C/Chlorophylle de 30,7 déterminé pour le phytoplancton de la colonne d'eau (chap.2, biomasse), il constitue entre 14 et 61% du Cp total sédimenté dans les trois baies. La sédimentation journalière du phytoplancton représente entre 5 et 44% (moyenne 19%) de la biomasse phytoplanctonique sus-jacente (44% en moyenne de la biomasse phytoplanctonique supérieure à 3 µm) et entre 6 et 122% (moyenne 36%) de la production primaire nette (98% en moyenne de la production nette supérieure à 3 µm, Tab. 3.10C). Ces résultats confirment l'importance de la sédimentation dans les exportations de la biomasse phytoplanctonique, en accord avec la faible contribution du zooplancton aux exportations de la biomasse phytoplanctonique en lagune (Pagano & Saint-Jean, 1988).

En retirant les contributions bactériennes et phytoplanctoniques aux valeurs de Cp total sédimenté, on peut estimer la sédimentation du carbone "détritique". Celui-ci représente journalièrement 78% en moyenne du CP détritique total de la colonne d'eau sus-jacente.

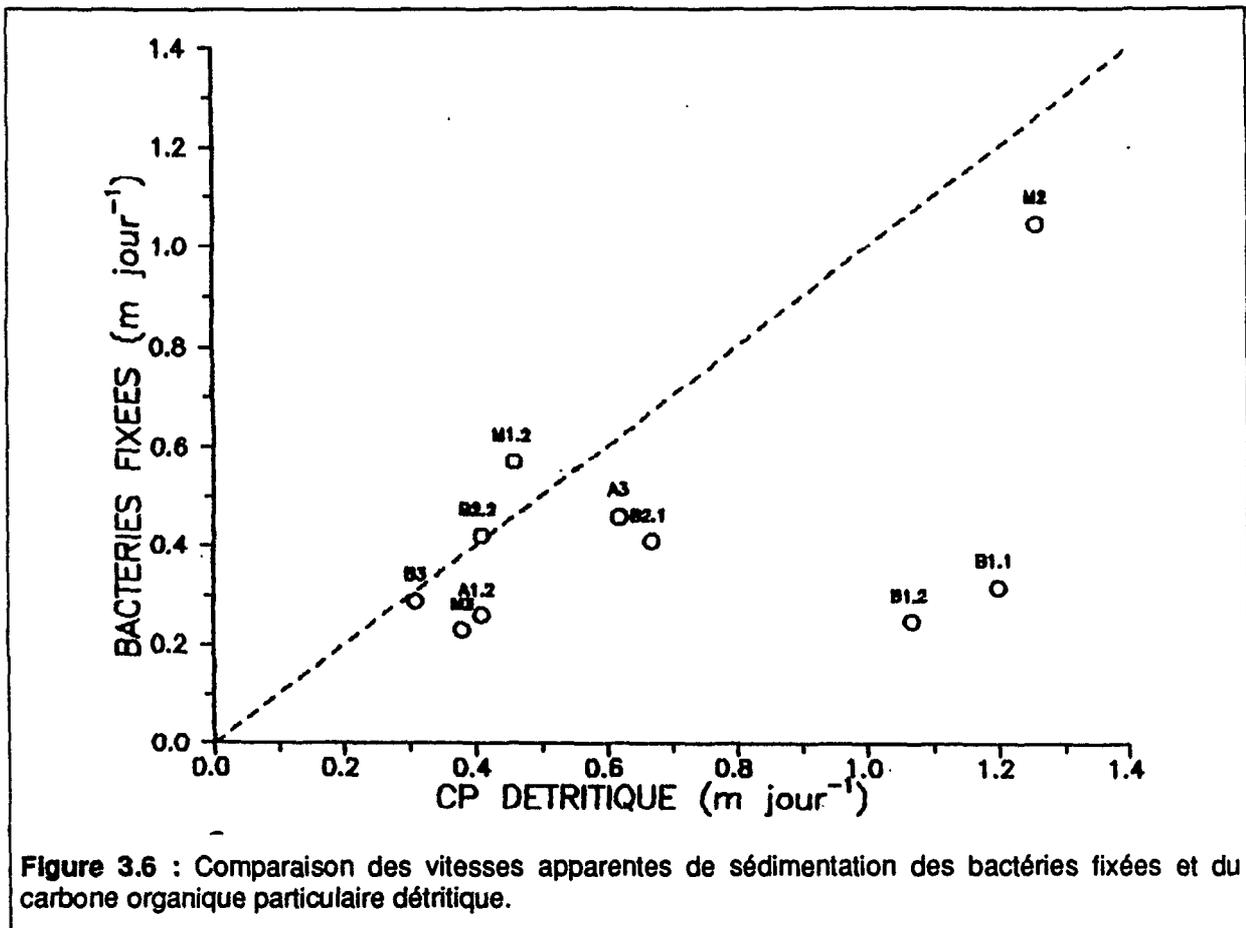
Tableau 3.10 C : Sédimentation journalière dans l'enceinte.
Exprimée en % de la colonne d'eau 0-0,90m sus-jacente.

	Cp phyto. %biom. totale	Cp phyto. %P.nette totale	Cp phyto. %biom. > 3 µm	Cp phyto. %P.nette > 3 µm	Cp total	Np total	Cp détr.	Bactéries fixées %biom. fixée	Bactéries fixées %prod. fixée
A1.2	11.3	9.9	23.0	20.2	23.1	11.2	45.4	29.4	26.0
A2	25.7	121.8	85.6	405.9	35.1	28.8	—	119.6	102.7
A3	11.7	32.1	20.2	55.3	45.2	42.4	68.8	50.6	148.9
B1.1	11.6	17.9	20.0	30.9	38.6	20.7	133.6	35.4	41.6
B1.2	17.7	20.7	30.5	35.7	51.2	21.2	119.3	28.0	29.9
B2.1	43.6	28.4	92.7	60.5	44.9	35.9	74.7	45.7	46.9
B2.2	44.2	38.7	94.1	82.3	37.5	31.8	45.6	46.9	45.9
B3	4.6	5.5	6.4	7.6	18.3	14.3	34.9	32.3	47
M1.1	13.9	26.1	33.1	62.2	30.3	27.5	72.7		
M1.2	14.6	10.7	34.8	25.4	28.6	26.1	51.6	63.4	70.2
M2	18.0	104.1	62.0	359.0	55.2	23.6	173.0	116.6	166.9
M3	9.6	16.1	20.9	35.1	28.7	14.8	42.1	26.1	50.7
Moyenne	18.9	36.0	43.6	98.3	36.4	24.9	78.3	54.0	70.6
E.-Type	12.8	37.4	31.4	134.7	11.2	9.2	44.6	33.6	48.0
N	12	12	12	12	12	12	11	11	11

Tableau 3.10 D : Vitesses apparentes de sédimentation (m/jour)

Cycle	Cp	Np	PHYTOPLANCTON		BACT. Fixées	Cp Détritique
			Total	> 3 µm		
A1.2	0.21	0.10	0.10	0.21	0.26	0.41
A2	0.32	0.26	0.23	0.77	1.08	—
A3	0.41	0.38	0.11	0.18	0.46	0.62
B1.1	0.35	0.19	0.10	0.18	0.32	1.20
B1.2	0.46	0.19	0.16	0.27	0.25	1.07
B2.1	0.40	0.32	0.39	0.83	0.41	0.67
B2.2	0.34	0.29	0.40	0.85	0.42	0.41
B3	0.16	0.13	0.04	0.06	0.29	0.31
M1.1	0.27	0.25	0.13	0.30		0.65
M1.2	0.26	0.23	0.13	0.31	0.57	0.46
M2	0.50	0.21	0.16	0.56	1.05	1.26
M3	0.26	0.13	0.09	0.19	0.23	0.38
Moyenne	0.33	0.22	0.17	0.39	0.49	0.68
E-Type	0.10	0.08	0.11	0.28	0.30	0.34
N	12	12	12	12	11	11

Pour chacune des composantes du flux on peut estimer les vitesses apparentes moyennes de sédimentation en divisant le flux de sédimentation par la concentration dans la colonne d'eau sus-jacente. En saisons d'étiage et de pluie les vitesses apparentes de sédimentation des bactéries fixées et du carbone particulaire détritique sont très comparables (Tab. 3.10D, Fig. 3.6). Ce qui confirme la relation entre bactéries fixées et carbone détritique particulaire.



Connaissant la vitesse de sédimentation moyenne des particules et la production bactérienne qui y est associée, il est possible d'estimer la part du matériel minéralisé avant son interception par le piège (à 0,90 m) ou son dépôt sur le fond (à 3 m) en supposant : (1) que les bactéries fixées ne consomment que le matériel particulaire, (2) qu'elles assimilent tout le matériel particulaire hydrolysé, (3) qu'elles ont une efficacité de croissance constante pendant la sédimentation et comparable à celle de la communauté totale soit environ 60% (chap. étalonnage). Ces trois hypothèses sont évidemment impossibles à vérifier ici, elles ne doivent donc être considérées qu'avec prudence. En les admettant arbitrairement, il est possible de calculer le taux de dégradation du carbone particulaire détritique en divisant l'activité hétérotrophe bactérienne fixée exprimée en mgC l⁻¹j⁻¹ (c'est à dire la production bactérienne fixée en mgC l⁻¹j⁻¹ divisée par 0,6) par la concentration en carbone particulaire détritique (en mgC l⁻¹). Les taux de dégradation ainsi calculés sont de l'ordre 0,03-0,17 j⁻¹ à Abou-Abou, 0,1-0,4 j⁻¹ à Biétri et 0,04-0,09 j⁻¹ à Mopoyem (Tab. 3.10E). En les multipliant par la durée moyenne de sédimentation du Cp détritique (calculée à l'aide des vitesses moyennes de sédimentation, Tab. 3.10D et 3.10E), on obtient une estimation de la proportion du CP détritique avant son arrivée dans les pièges ou sur le sédiment. Ce calcul permet d'estimer une dégradation du CPd de l'ordre de 30% avant sont dépôt dans le piège en baies de Biétri et Abou-Abou et d'environ 10% à Mopoyem. Avant son arrivée à 3 m (profondeur totale de la colonne d'eau aux stations étudiées en baies d'Abou-

Abou et Mopoyem et profondeur de la couche oxygénée en Baie de Biétri), le carbone particulaire détritique subirait une dégradation de l'ordre de 100% à Biétri et Abou-Abou et de 5 à 50% à Mopoyem. Les valeurs les plus faibles pour les baies de Biétri et d'Abou-Abou sont obtenues en saison des crues, lorsque l'activité spécifique des fractions fixées est à son minimum (Tab. 3.8). Les proportions sont vraisemblablement inférieures car tout le matériel détritique ne présente probablement pas la même dégradabilité. Il est donc probable que la vitesse de dégradation diminue au cours du temps. Cette minéralisation active pourrait expliquer l'exportation apparemment plus faible de l'azote que du carbone particulaire (25% du Np sus-jacent par jour contre 36% pour le Cp, Tab. 3.10C) et donc l'augmentation du rapport C/N du matériel récolté dans les pièges par rapport à celui prélevé dans la colonne d'eau.

Tableau 3.10 E : Dégradation du Cp détritique

	Turn-Over du Cp détritique (jour ⁻¹)	Temps de demi dégradation (jours)	Durée de sédimentation (jours) avant son dépôt à		% du Cp détritique dégradé avant son dépôt à	
			0,90 m	3 m	0,90 m	3 m
A1.2	0.17	4.1	2.2	7.3	38	125
A2	—	—	—	—	—	—
A3	0.03	24.4	1.5	4.8	4	14
B1.1	0.44	1.6	0.7	2.5	33	109
B1.2	0.31	2.3	0.8	2.8	26	85
B2.1	0.27	2.6	1.3	4.5	36	118
B2.2	0.14	4.9	2.2	7.3	31	104
B3	0.07	10.0	2.9	9.5	20	66
M1.1	0.09	7.3	1.4	4.6	13	43
M1.2	0.07	9.5	1.9	6.5	14	47
M2	0.07	10.7	0.7	2.4	5	15
M3	0.04	15.6	2.4	7.9	11	35
Moyenne	0.15	8.5	1.6	5.5	21	69
E.-type	0.13	6.8	0.7	2.4	12	41
N	11	11	11	11	11	11

Au cours des trois derniers cycles ces flux ont également été estimés à l'extérieur de l'enceinte, les valeurs obtenues sont du même ordre que celles mesurées à l'intérieur (Tab. 3.10F) pour des moyennes comparables dans la colonne sus-jacente (Tab. 3.1 et 3.2). Les différences les plus marquées sont obtenues en baie de Biétri où l'hydrodynamisme est le plus actif, ce qui accroît les risques de sous-estimation des flux à l'extérieur de l'enceinte. Les flux de sédimentation élevés déterminés dans l'enceinte ne semblent donc pas résulter d'une perturbation liée au mésocosme.

Tableau 3.10F : Comparaison des valeurs de sédimentation dans l'enceinte et à l'extérieur.

	Pigments mg m ⁻² j ⁻¹	Bactéries 10 ¹² m ⁻² j ⁻¹	Cp mgC m ⁻² j ⁻¹	Np mgN m ⁻² j ⁻¹	Poids sec mg m ⁻² j ⁻¹
A3 Enceinte	2.20	1.27	779	132	2372
A3 Extérieur	1.95	0.81	674	102	3047
Différence %	12	44	14	26	25
B3 Enceinte	4.64	2.18	1133	126	2525
B3 Extérieur	2.81	1.19	668	166	1595
Différence %	49	59	52	27	45
M3 Enceinte	1.92	0.75	566	44	2958
M3 Extérieur	3.24	0.61	509	38	3543
Différence %	51	21	11	15	18

Différence : valeur absolue de l'écart rapporté à la moyenne entre mésocosme et milieu environnant.

La sédimentation, en représentant en moyenne 71% de la production de biomasse > 3 µm apparaît donc être une composante essentielle de l'exportation de la biomasse bactérienne fixée aux trois sites étudiés.

Par ailleurs, d'après les données obtenues dans l'enceinte, il semble que l'essentiel du carbone organique détritique soit dégradé avant d'atteindre le bas de la colonne d'eau oxygénée aux trois sites étudiés. Cette dégradation importante est probablement due à la température élevée de la lagune Ebré et aux activités spécifiques élevées des communautés bactériennes. En comparaison, dans le lac Léman, de température moyenne plus basse (4°C), les bactéries n'apparaissent capables de minéraliser que 10 à 21% du flux de Cp à 50 m de profondeur (Stroffek & Dufour, 1991).

Dans le milieu lagunaire, peu profond, le régime des vents, en homogénéisant la colonne d'eau, peut augmenter le temps de résidence du matériel détritique particulaire dans la lame d'eau et donc l'état de dégradation de ce matériel. Cette resuspension, associée à la vitesse de dégradation élevée du matériel détritique particulaire, pourrait expliquer la faiblesse de l'activité spécifique des communautés fixées, reposant sur du matériel déjà dégradé, vis-à-vis de celle des communautés libres.

e. Prédation

Au cours de cette série d'expérimentations, l'activité de prédation sur les bactéries a été déterminée en incubant parallèlement des échantillons d'eau du milieu avec ou sans inhibiteurs bactériens (chloramphénicol 100 mg l⁻¹ ou mélange pénicilline/streptomycine 20/20 mg l⁻¹). L'abondance bactérienne totale et l'activité d'incorporation de thymidine étaient suivies à intervalles réguliers dans les deux flacons d'incubation. En adoptant un mode de croissance exponentiel, si l'on néglige les autres pertes, l'équilibre entre production et prédation peut s'écrire :

$N(t) = N_0 \exp((\mu - g)t)$ (1) avec μ taux de croissance, g taux de prédation, $N(t)$ et N_0 abondances bactériennes aux temps t et t_0 .

Dans les échantillons non perturbés, lorsque les deux phénomènes s'équilibrent, le taux de croissance apparent $\mu - g$ est nul et la biomasse est stable. L'apport d'inhibiteur bactérien, en arrêtant la croissance bactérienne ($\mu = 0$) sans perturber l'activité de prédation, entraîne une diminution de la biomasse bactérienne qui peut être décrite par une cinétique du premier ordre : $N(t) = N_0 \exp(-gt)$. Une régression linéaire du log Népérien de l'abondance bactérienne au cours du temps permet d'accéder au taux de prédation, g , pente de la droite : $\ln(N(t)) = -gt + \ln(N_0)$ (2).

Toutefois, dans le milieu lagunaire, les activités élevées et la charge importante en matériel susceptible de sédimenter imposent des temps d'incubations inférieurs à 24 h afin de limiter la croissance artificiellement induite par le confinement dans les flacons non traités. Cette durée s'est révélée courte vis-à-vis du temps d'inhibition des activités de croissance bactériennes. Dans les échantillons recevant l'inhibiteur bactérien, l'incorporation spécifique de thymidine par cellule ne s'annule pas immédiatement mais décroît avec une cinétique généralement d'ordre 1 telle que : $\text{Thym/cell}(t) = \text{Thym/cell}(0) \exp(-\delta t)$ avec un taux de décroissance δ de 0,06 à 0,27 h⁻¹ (Tab. 3.11). Si l'on considère que cette incorporation résiduelle est indicatrice d'une croissance résiduelle (donc que Thym/cell est proportionnelle à μ), on peut écrire : $\mu(t) = \mu(0) \exp(-\delta t)$ (3). Les taux de prédatations réels sont sous-estimés lorsque l'on emploie l'équation (2). L'équation décrivant le mieux la décroissance de l'abondance bactérienne devient alors :

$N(t) = N_0 \exp((\mu(t) - g)t)$ (1) avec : $\mu(t) = \mu(0) \exp(-\delta t)$ (3) d'où : $N(t) = N_0 \exp((\mu(0) \exp(-\delta t) - g)t)$ (4)

soit : $\ln(N(t)) = \ln(N_0) + ((\mu(0) \exp(-\delta t)) - g)t$ (5)

Dans ce cas, le logarithme de l'abondance bactérienne ne varie pas linéairement avec le temps avant des durées d'incubations importantes (lorsque $\exp(-\delta t)$ tend vers 0, fig. 3.7).

Les taux de prédation ont donc été estimés en calculant pour chaque intervalle de temps ($t_2 - t_1$) la production résiduelle par : $(N(t_2) - N'(t_2))/N(t_1)/(t_2 - t_1)$ avec :

- $N(t_1)$ et $N(t_2)$: abondances déterminées à t_1 et t_2 et $N'(t_2)$: nombre de cellules théoriquement atteint à t_2 si la prédation était nulle : $N'(t_2) = N(t_1) \exp(\mu_{(1-2)}(t_2 - t_1))$ avec $\mu_{(1-2)}$: taux de croissance moyen entre les 2 points.

Les taux de croissance sont estimés par : $\mu = (\text{thym} \times \text{FC}) / (\text{cell} \times V_{\text{moy}})$ avec :

- FC : facteur de conversion de 0,74 10¹⁷ μm^3 par mole de thymidine dans le TCA précipité (chap.thymidine) et
- V_{moy} : volume cellulaire moyen (0,1 μm^3) soit donc $\text{FC} = 0,74 \cdot 10^{18} \text{cellules/mole de Tdr}$

Les résultats récapitulatifs des 13 expérimentations sont exprimés en Tab. 3.11 et Fig. 3.7.

Dans les échantillons non traités, trois expériences montrent une croissance cellulaire significative (μ apparent > 0 ; $P < 0,05$) et donc un contrôle insuffisant de la biomasse bactérienne ($g < \mu$). Ce sont les deux échantillons incubés de jour au cours du cycle A1 (Abou-Abou saison d'été) et celui réalisé au cours du cycle A3 (Abou-Abou, saison des crues) (Tab. 3.11). Les 10 autres échantillons présentent une biomasse et une activité stable ce qui montre que le confinement pendant l'incubation n'a pas entraîné de stimulation des activités bactériennes et que la croissance et la prédation sont étroitement couplés aux échelles de temps (12-18 h) et de volume (500 ml) utilisées.

Tous les échantillons recevant les inhibiteurs montrent une décroissance significative de l'abondance bactérienne.

En tenant compte de la croissance résiduelle, les taux de prédation varient de 0,013 (A3) à 0,059 h⁻¹ (B2N2), pour des taux de croissance compris entre 0,026 et 0,061 h⁻¹ (comparables à ceux obtenus dans l'enceinte). Les taux de croissance et de mortalité par prédation sont similaires, à l'exception des trois expérimentations (A1J1, A1J2, A3) où le contrôle (sans inhibiteurs) montre une augmentation nette des effectifs bactériens. On peut remarquer que le déséquilibre entre production et prédation au cours des cycles A1J1 et A1J2 (Abou-Abou, saison d'été, de jour) est dû à un taux de croissance plus élevé pendant le jour alors que le taux de prédation reste constant de nuit et de jour.

En moyenne, sur les 13 expérimentations, la mortalité par prédation explique près de 80% des sorties de biomasse bactérienne (Tab. 3.11, Fig. 3.8).

Dans ce système lagunaire, la prédation par le nanoplancton hétérotrophe représente donc l'essentiel des exportations de la biomasse bactérienne. La maturation des virus bactériophages étant arrêtée en présence d'inhibiteurs de la synthèse protéique bactérienne (Heldal & Bratbak, 1991), la mortalité bactérienne d'origine virale n'est donc pas prise en compte avec la méthode utilisée. Des travaux récents (Proctor *et al.* 1988 ; Bergh *et al.* 1989 ; Borsheim *et al.* 1990 ; Bratbak *et al.* 1990 ; Proctor & Fuhrman, 1990 ; Heldal & Bratbak, 1991) rapportent des abondances de particules virales plus importantes qu'on ne le soupçonnait auparavant. Dans les milieux aquatiques, les virus pourraient contrôler la biomasse bactérienne à partir de concentrations seuils de 7 10³ UFC ml⁻¹ (Wiggins & Alexander, 1985) et de telles concentrations sont largement atteintes en milieu lagunaire (Carmouze & Caumette, 1985 ; Caumette *et al.* 1991). La lyse d'origine virale pourrait donc être responsable d'une partie des 20% d'élimination non expliqués par l'approche utilisée.

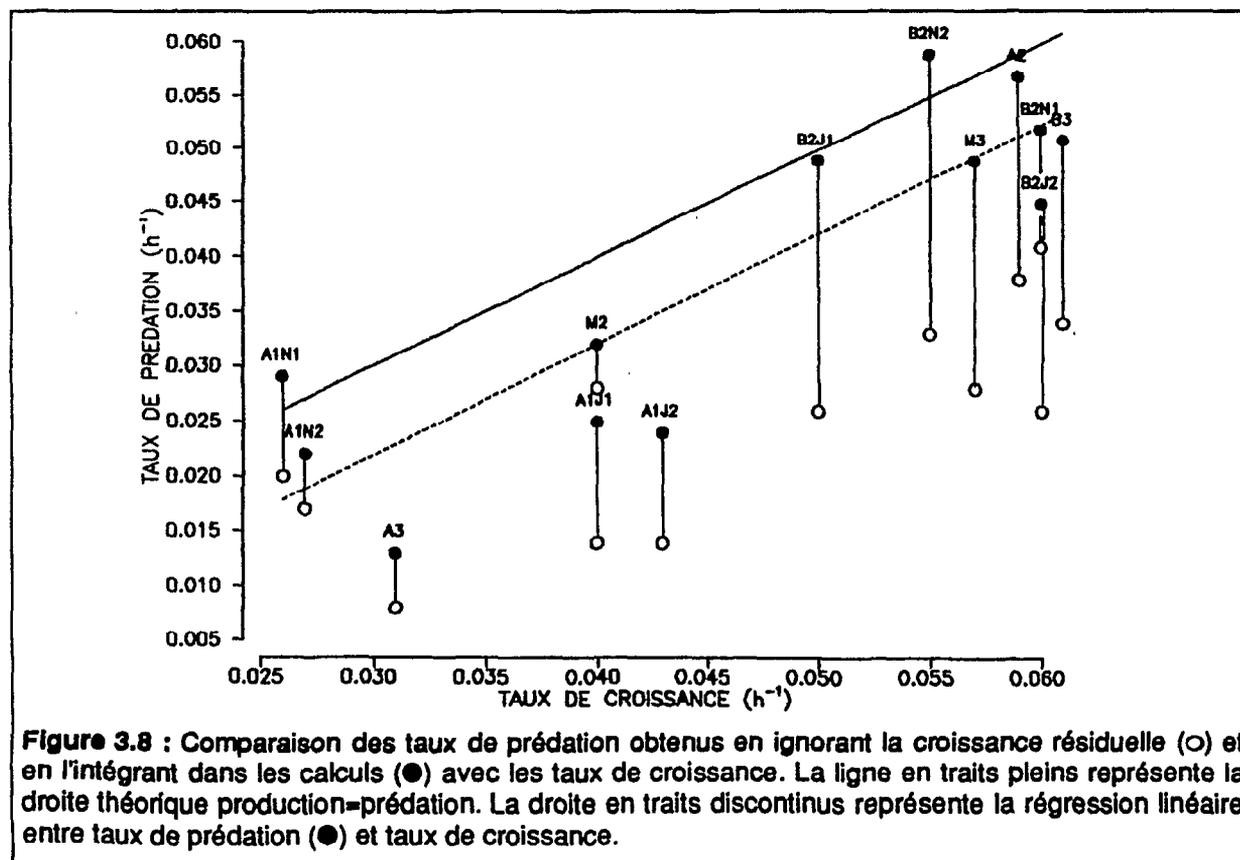
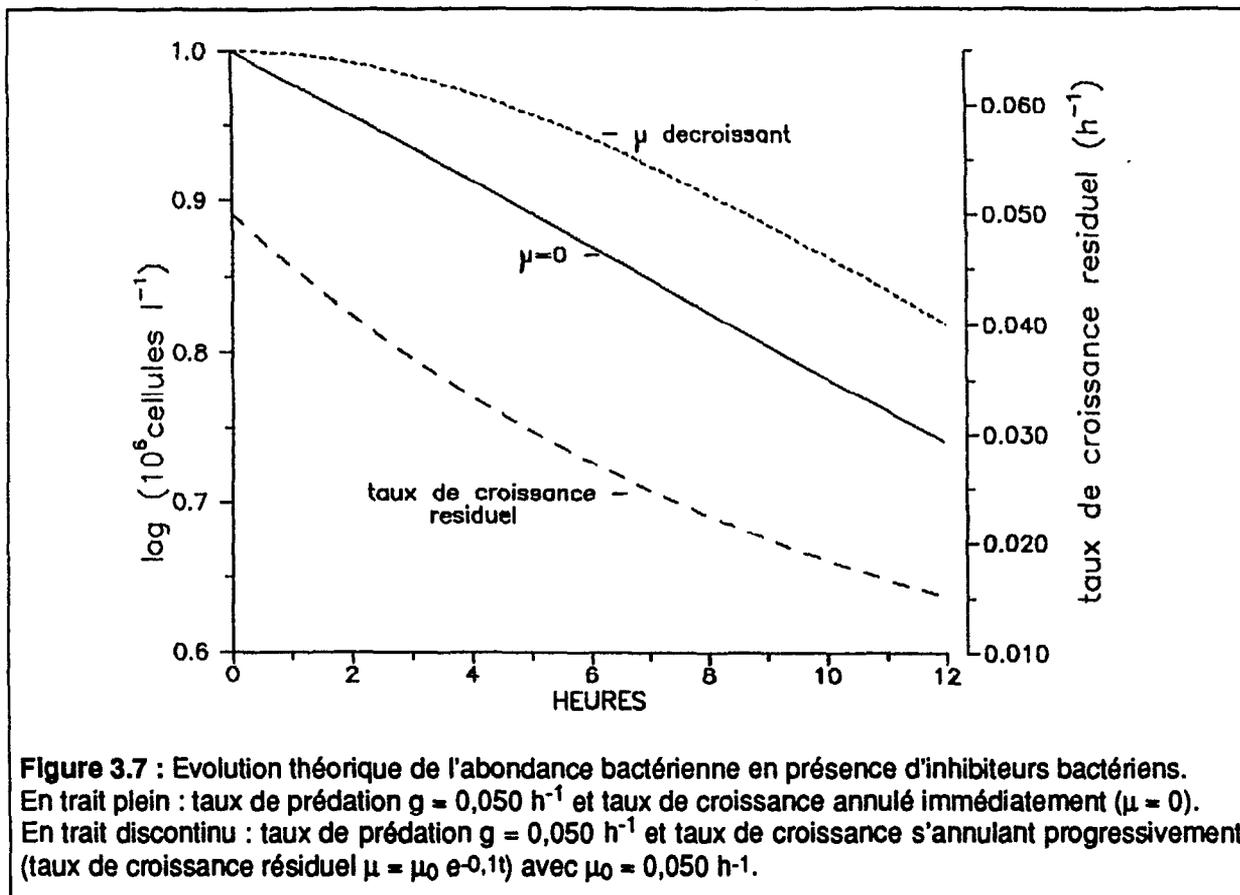
Tableau 3.11 : Taux de croissance et de prédation (h⁻¹) dans l'enceinte.

CYCLE	Taux de croissance apparent Biomasse Ech. non traité	Taux de croissance apparent Biomasse Antibiotiques	Taux de croissance apparent Act. Spécifique Antibiotiques	Taux de croissance réel (g) Biomasse Ech. non traité	Taux de prédation (h) corrigé de la croissance résiduelle
A1J1	0.019 (a) 0.002 (b) 0.985 (c)	-0.014 0.003 0.970	-0.170 0.045 0.967	0.040 (d) 0.005 (e) 4 (f)	-0.025 0.011 4
A1J2	0.032 0.007 0.954	-0.014 0.002 0.980	-0.093 0.026 0.931	0.043 0.006 4	-0.024 0.01 4
A1N1	0.005 0.008 0.404	-0.020 0.002 0.992	-0.065 0.033 0.816	0.026 0.004 4	-0.029 0.008 4
A1N2	-0.001 0.003 0.303	-0.017 0.003 0.936	-0.186 0.037 0.981	0.027 0.006 3	-0.022 0.008 4
A2	0.003 0.001 0.799	-0.038 0.003 0.991	-0.036 0.013 0.853	0.059 0.004 6	-0.057 0.02 6
A3	0.007 0.002 0.906	-0.008 0.001 0.988	-0.122 0.038 0.883	0.031 0.014 5	-0.013 0.006 5
B2J1	0.008 0.007 0.598	-0.026 0.005 0.971	-0.054 0.006 0.988	0.050 0.005 4	-0.049 0.015 4
B2J2	-0.005 0.003 0.760	-0.041 0.003 0.996	-0.266 0.050 0.966	0.060 0.004 4	-0.045 0.005 4
B2N1	-0.005 0.003 0.771	-0.026 0.004 0.978	-0.060 0.023 0.878	0.060 0.009 4	-0.052 0.007 4
B2N2	-0.003 0.001 0.849	-0.033 0.002 0.999	-0.226 0.053 0.948	0.055 0.002 4	-0.059 0.015 4
B3	0.008 0.006 0.601	-0.034 0.004 0.976	-0.077 0.012 0.966	0.061 0.005 5	-0.051 0.020 5
M2	0.003 0.003 0.397	-0.028 0.003 0.973	-0.055 0.013 0.880	0.040 0.007 7	-0.032 0.012 7
M3	0.003 0.003 0.440	-0.028 0.001 0.996	-0.080 0.008 0.985	0.057 0.007 5	-0.049 0.017 5

J pour jour, N pour nuit, ex : A1J1 : cycle A1 jour 1

(a): μ = pente de la droite en log Neperien, (b): erreur standard sur la pente, (c): coefficient de corrélation r, (d): moyenne, (e): écart-type, (f): nombre de points, (g): estimé par la thymidine avec μ = thym/cellule x 0,74 10¹⁸ μm^3 / 0,1 μm^3 (voir texte), (h): voir calcul dans texte

NB : certaines expérimentations montrent un taux de croissance significatif (P<0.05) dans l'échantillon brut. Ce sont pour l'abondance : A1J1, A1J2 et A3 et pour l'activité spécifique (ou taux de croissance): A1N1 et A3



2. Evolution nycthémerale des activités et des biomasses bactériennes libres et fixées

a. Tendance générale. Signification des différences jour/nuit

D'une manière générale, les fluctuations journalières de la biomasse bactérienne totale (fixée et libre) sont de faible amplitude. Le coefficient de variation (CV) est en moyenne de 10,1% (4 à 29%) dans l'enceinte et 9,6% (7 à 11%) à l'extérieur pour l'abondance totale (Tab. 3.1 et 3.2). Ces valeurs sont proches de la reproductibilité des comptages (environ 10%, cf. chap.2, biomasse). Néanmoins, on peut observer une tendance moyenne à l'augmentation pendant la nuit (fig. 3.13).

La production de biomasse bactérienne varie de manière plus sensible (CV=24% dans l'enceinte et 18,4% à l'extérieur, Tab. 3.1 et 3.2). Dans l'enceinte, la production de biomasse bactérienne montre toujours un maximum de nuit, à l'exception du cycle A1 (Abou-Abou, saison d'étiage) où la tendance est inverse (fig. 3.10). Au cours de cette étude, chaque jour, un vent violent s'établissait le matin et cessait dès la tombée du jour. Ce vent, en provoquant une remise en suspension du sédiment superficiel pourrait avoir stimulé les activités bactériennes dans la couche d'eau (Wainright, 1987, 1990). On observe effectivement, dans l'enceinte, une augmentation brutale de l'activité et de la biomasse fixée au cours de la première journée (Fig. 3.10).

Dans l'enceinte, les plus fortes amplitudes de variation sont observées en saison des crues, les activités chutant très fortement dans la journée pour remonter la nuit dans les trois baies (cycles A3, B3, M3). Il est possible que la suppression des apports latéraux ait conduit à un relatif épuisement des activités bactériennes dans l'enceinte à cette période. Aux trois sites étudiés, cette période correspond, par ailleurs, au minimum d'activité bactérienne (Tab. 3.1 et 3.2).

L'évolution des activités est comparable en milieu ouvert, bien que moins prononcée. Deux raisons peuvent être évoquées: (1) l'intervention de la variabilité spatiale à l'extérieur peut masquer ou atténuer les tendances (voir évolution de la conductivité fig. 3.9). (2) le confinement de la masse d'eau dans l'enceinte peut exagérer les tendances, en diminuant l'activité photosynthétique par exemple (cf. paragraphe 4.1.1)

La biomasse phytoplanctonique suit une évolution exactement inverse à celle de la biomasse et de la production bactérienne, présentant un maximum en milieu de journée et une décroissance pendant la nuit. Cette décroissance a pris des proportions importantes au cours des trois derniers cycles (saison des crues) tant dans l'enceinte, qu'à l'extérieur.

Une analyse de variance (ANOVA) a permis de déterminer si l'augmentation relative des activités et des biomasses bactériennes au cours de la nuit est significative, dans l'enceinte et à l'extérieur. Pour cette analyse, les données (Chlorophylle *a*, pigments, incorporation de thymidine par la communauté totale, libre et fixée, abondance bactérienne totale, libre et fixée, activité spécifique cellulaire des communautés totale, libre et fixée) ont été exprimées en pourcentage de leurs moyennes journalières respectives. Les mesures effectuées à l'aube et au crépuscule (points de 6h et de 18 h) ont été éliminées afin d'obtenir deux groupes Nuit et Jour parfaitement distincts. Les moyennes de ces deux groupes sont représentées en tableaux 3.12 et 3.13. Après vérification de l'homogénéité des variances (à l'exception des variables Phéopigments et Pigments aux variances

non homogènes), l'analyse a été effectuée en utilisant les différences Nuit/Jour comme source de variation .

Tableau 3.12 : Moyennes journalières et analyse de variance dans l'enceinte

SITE	Chl. <u>a</u>	Pigm.	Incorp. de thymidine			Abondance bactérienne			Activité spécifique		
			Totale	Libre	Fixée	Totale	Libre	Fixée	Totale	Libre	Fixée
Abou	101.4	100.6	92.2	91.3	99.4	96.3	95.7	109.4	94.3	94.1	98.8
Abou	30.3	14.0	41.7	44.7	53.0	21.7	16.4	66.7	26.2	36.0	8.9
	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Blétri	104.4	101.6	99.0	97.9	101.4	100.8	99.1	105.0	98.2	99.1	99.5
	50.9	14.2	19.2	20.7	26.5	7.8	10.6	44.5	22.0	23.1	6.8
	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34
Mopoyem	99.2	98.1	98.0	97.7	99.3	99.0	97.5	101.8	97.4	99.9	100.8
	45.7	12.4	20.8	20.8	39.7	7.3	9.0	30.0	22.5	23.6	4.8
	32	32	32	32	32	20	20	20	20	20	20
Jour	129.7	108.1	82.4	81.2	91.5	94.9	93.5	110.7	83.7	84.3	98.1
	34.6	12.8	21.7	23.6	32.0	12.7	12.4	56.0	18.1	23.4	7.0
	43	43	43	43	43	37	37	37	37	37	37
Nuit	73.8	92.0	111.6	111.4	108.9	103.3	102.0	100.0	110.2	111.6	101.3
	34.8	8.1	22.4	23.5	42.5	12.0	10.0	38.1	19.7	23.4	6.5
	43	43	43	43	43	37	37	37	37	37	37
Rapport des variances	1.01	2.49	1.07	1.01	1.76	1.12	1.52	2.16	1.18	1.00	1.15
ANALYSE DE VARIANCE : SOURCE DE VARIATION : JOUR/NUIT											
	Chl. <u>a</u>	Pigm.	Incorp. de thymidine			Abondance bactérienne			Activité spécifique		
			Totale	Libre	Fixée	Totale	Libre	Fixée	Totale	Libre	Fixée
P	0.000	ND	0.000	0.000	0.037	0.005	0.002	0.355	0.000	0.000	0.047
	★★★		★★★	★★★	★	★★	★★	NS	★★★	★★★	★

ND: Non déterminé car variances non homogènes.

Tableau 3.13 : Moyennes journalières et analyse de variance à l'extérieur de l'enceinte

SITE	Chl. <u>a</u>	Pigments	Incorporation de thymidine			Abondance Bactérienne Totale	Activité Spécifique Totale
			Totale	Libre	Fixée		
Abou- Abou	103.4	100.2	96.6	96.2	99.2	98.9	97.6
	65.3	25.3	22.1	22.8	77.3	7.0	20.9
	20	20	20	20	20	20	20
Blétri	110.0	102.0	99.1	99.4	98.0	96.6	102.0
	93.8	8.9	8.6	11.2	36.1	7.7	12.2
	10	10	10	10	10	10	10
Mopoyem	102.2	102.8	98.5	98.2	105.3	100.2	98.3
	67.1	22.7	18.7	19.1	69.9	7.6	20.4
	20	20	20	20	20	20	20
Jour	159.3	115.7	91.7	87.4	122.5	102.0	89.4
	49.2	18.2	21.1	19.7	66.0	7.2	19.3
	25	25	25	25	25	25	25
Nuit	49.2	87.5	104.0	107.9	80.3	95.9	108.2
	39.3	14.2	12.9	12.1	61.9	6.4	13.3
	25	25	25	25	25	25	25
Rapport des variances	1.57	1.64	2.67	2.65	1.14	1.26	2.10
ANALYSE DE VARIANCE - SOURCE DE VARIATION: JOUR/NUIT							
	Chl. <u>a</u>	Pigments	Incorporation de thymidine			Abondance Bactérienne Totale	Activité Spécifique Totale
			Totale	Libre	Fixée		
P	0.000 ★★★	0.000 ★★★	0.016 ★	0.000 ★★★	0.024 ★	0.003 ★★	0.002 ★★

Dans l'enceinte (tab. 3.12), la baisse de la chlorophylle a et des pigments la nuit est très hautement significative. A l'opposé, la biomasse, la productivité et l'activité spécifique de la communauté bactérienne totale (libre et fixée) sont significativement plus fortes de nuit. Si l'on sépare les paramètres des communautés libre et fixée, on remarque que les tendances Nuit/Jour sont bien moins marquées pour la communauté fixée (voire non significative pour la biomasse). Les variations restent très significatives pour la communauté libre.

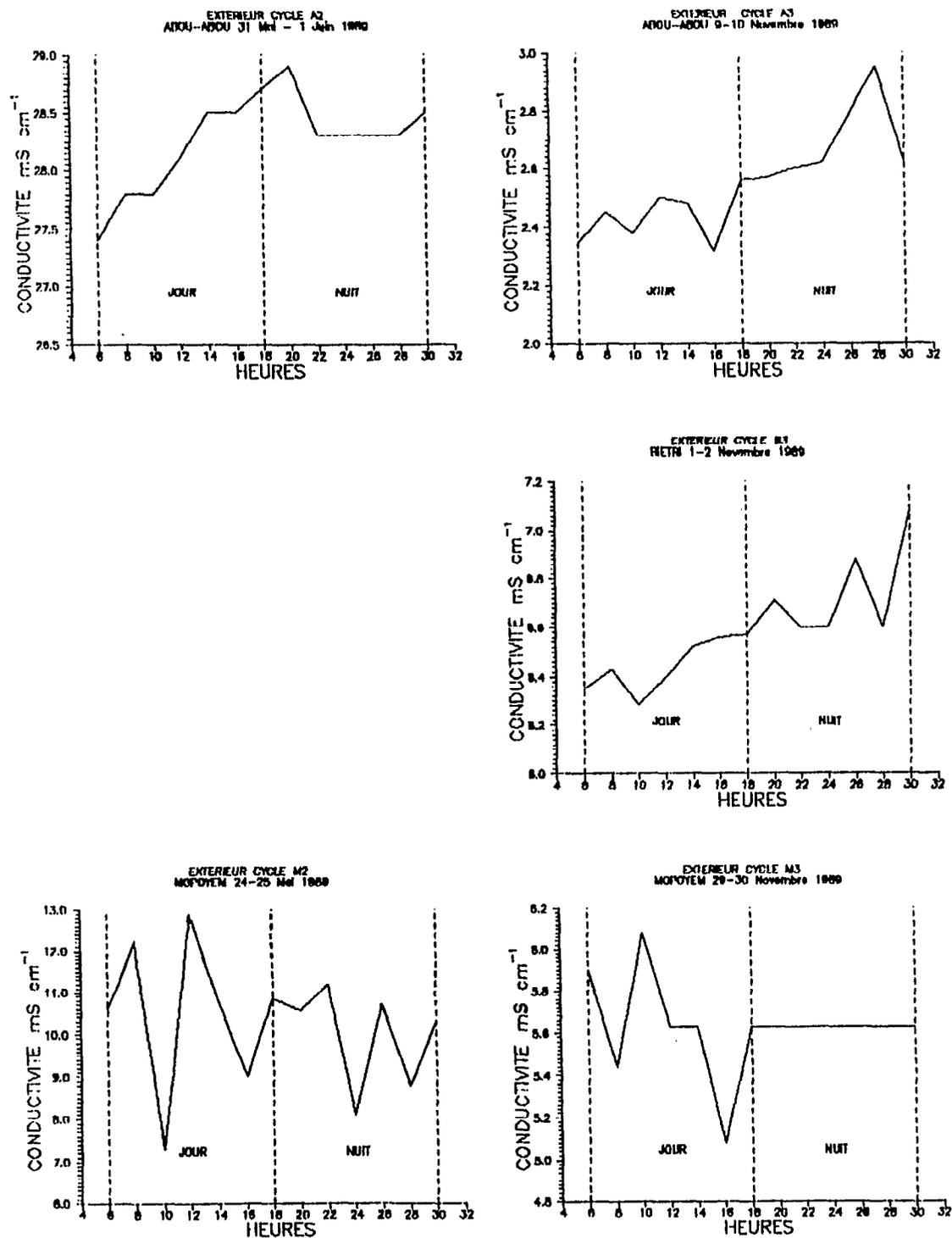


Figure 3.9 : Evolution de la conductivité à l'extérieur de l'enceinte au cours des 5 derniers cycles.

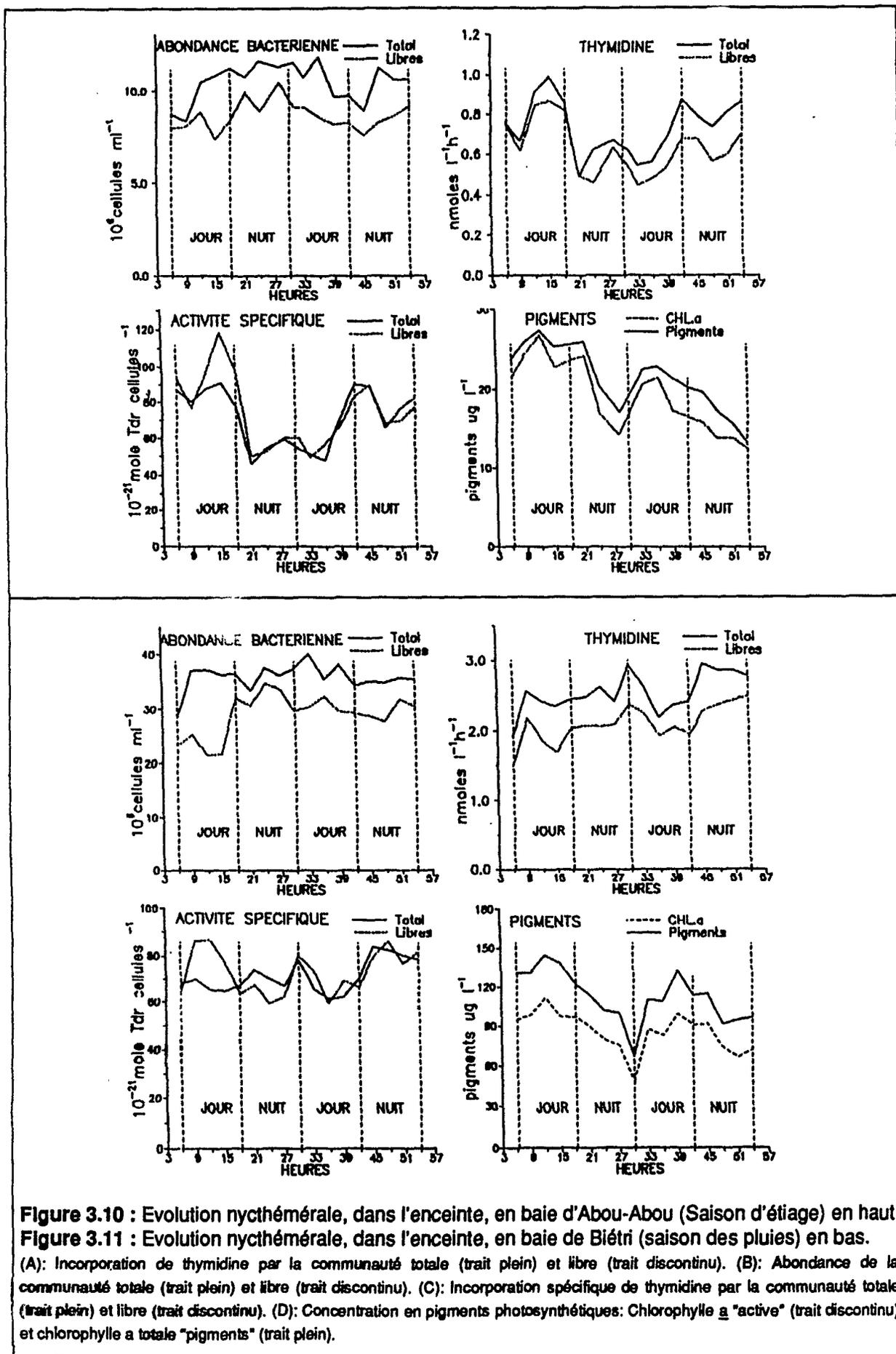


Figure 3.10 : Evolution nyctémérale, dans l'enceinte, en baie d'Abou-Abou (Saison d'étéage) en haut.
 Figure 3.11 : Evolution nyctémérale, dans l'enceinte, en baie de Biétri (saison des pluies) en bas.

(A): Incorporation de thymidine par la communauté totale (trait plein) et libre (trait discontinu). (B): Abondance de la communauté totale (trait plein) et libre (trait discontinu). (C): Incorporation spécifique de thymidine par la communauté totale (trait plein) et libre (trait discontinu). (D): Concentration en pigments photosynthétiques: Chlorophylle a "active" (trait discontinu) et chlorophylle a totale "pigments" (trait plein).

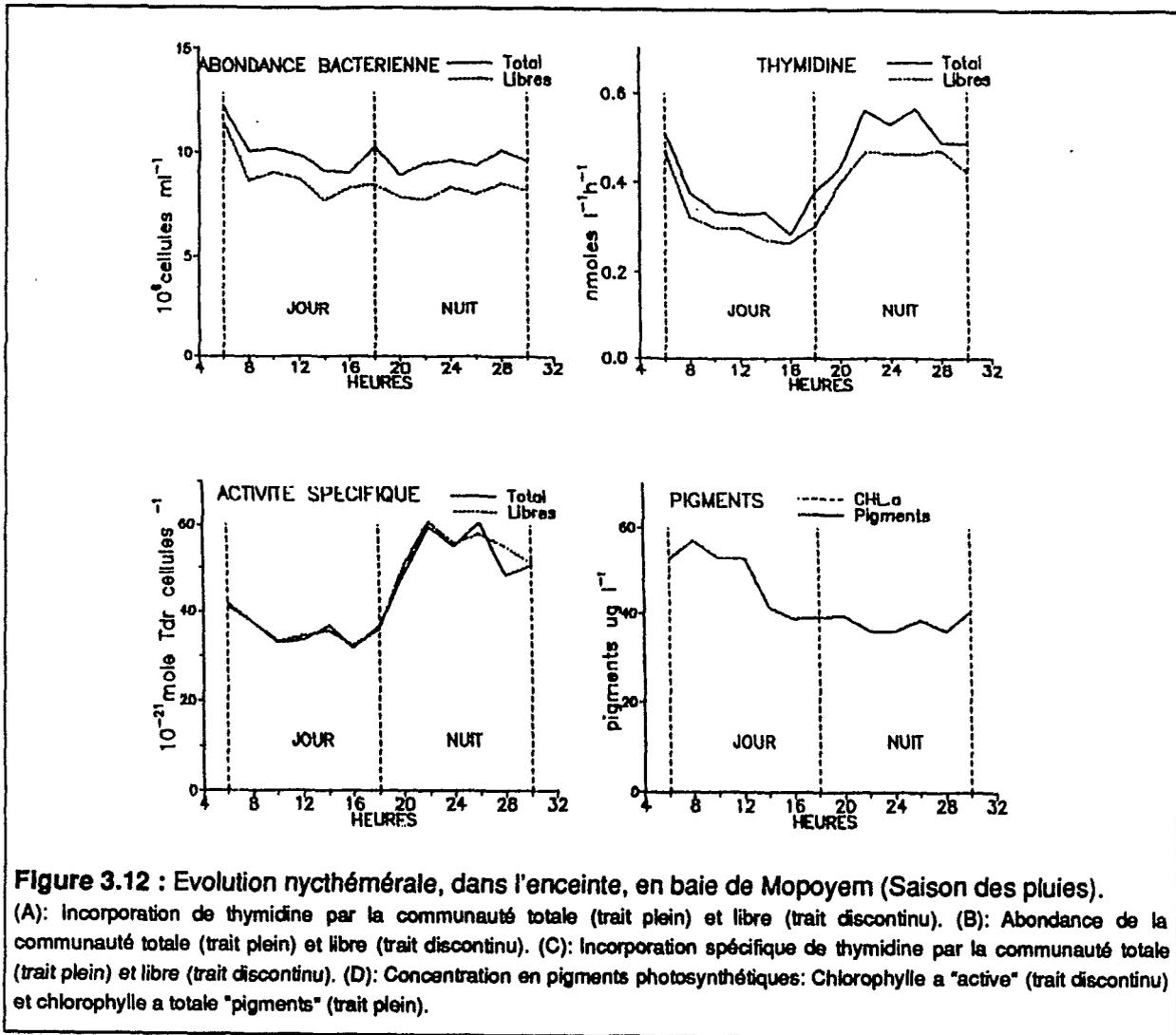


Figure 3.12 : Evolution nycthémerale, dans l'enceinte, en baie de Mopoyem (Saison des pluies).
 (A): Incorporation de thymidine par la communauté totale (trait plein) et libre (trait discontinu). (B): Abondance de la communauté totale (trait plein) et libre (trait discontinu). (C): Incorporation spécifique de thymidine par la communauté totale (trait plein) et libre (trait discontinu). (D): Concentration en pigments photosynthétiques: Chlorophylle a "active" (trait discontinu) et chlorophylle a totale "pigments" (trait plein).

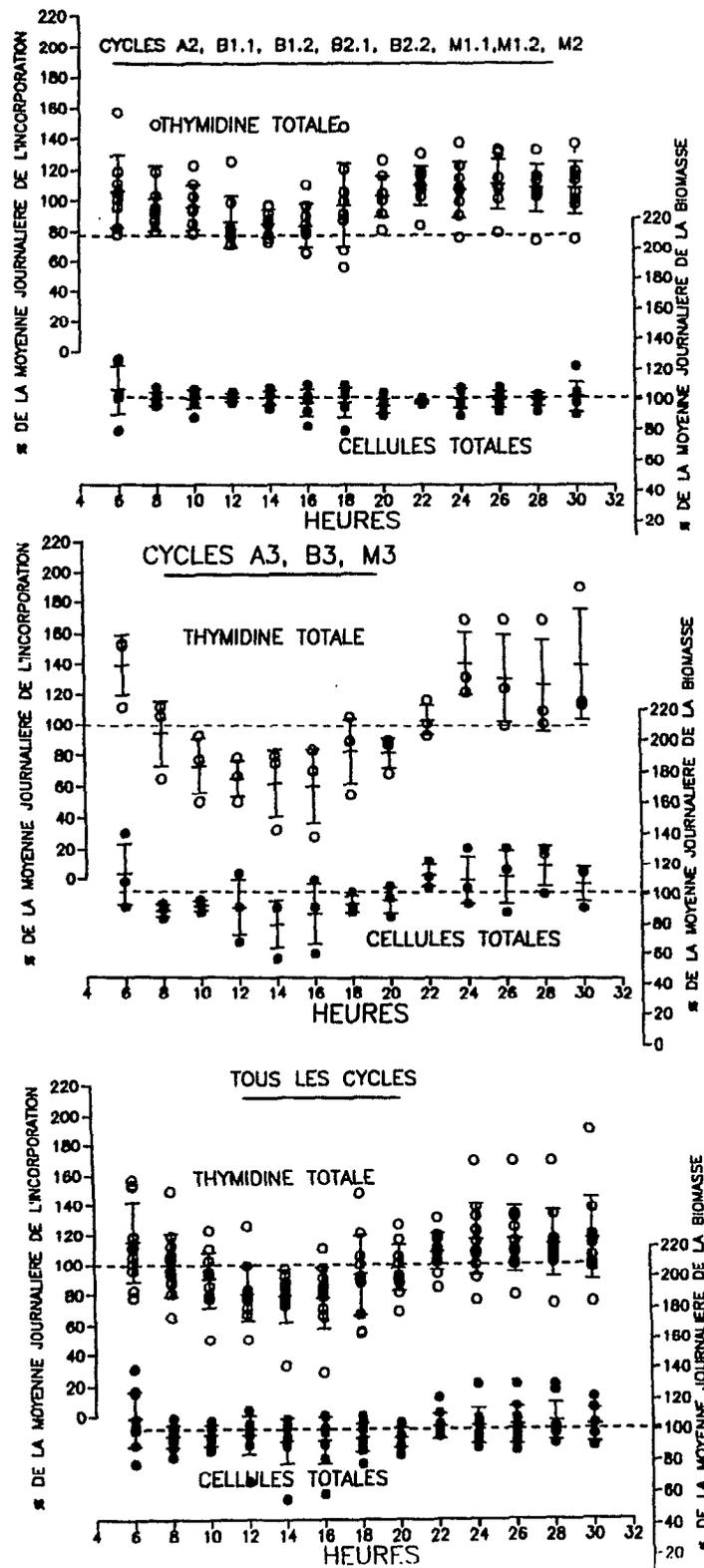


Figure 3.13 : Evolution nycthémerale moyenne dans l'enceinte

(A): Biomasse et activité d'incorporation de thymidine de la communauté totale. Chaque point est exprimé en % de la moyenne journalière. Les points des cycles A1, B1.1, B1.2 et M1 espacés de 3 heures ont été extrapolés toutes les 2 heures par interpolation linéaire pour les homogénéiser avec les cycles suivants.

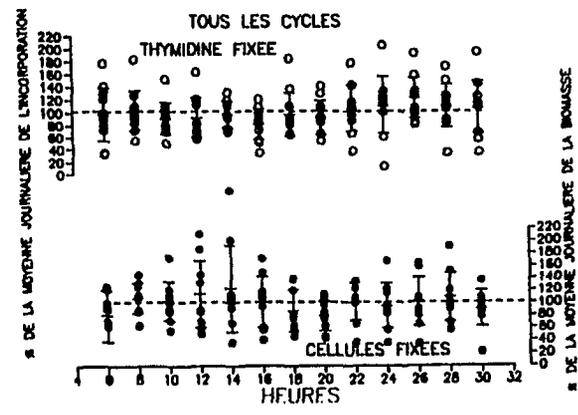
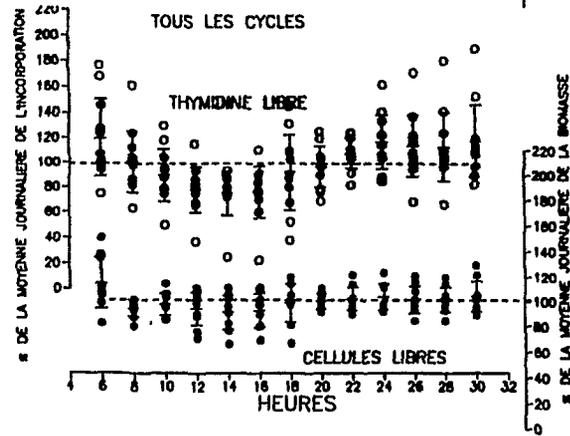
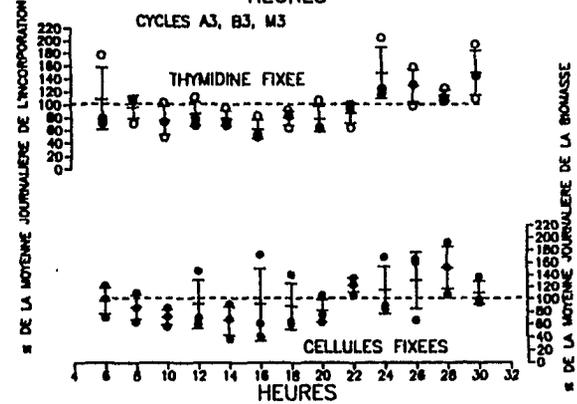
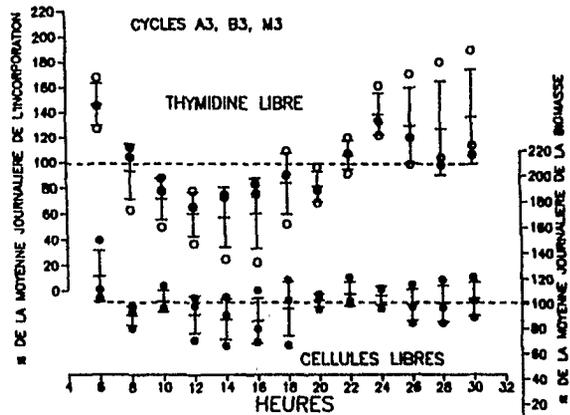
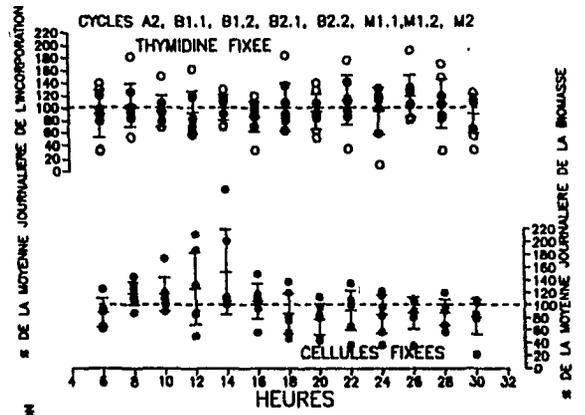
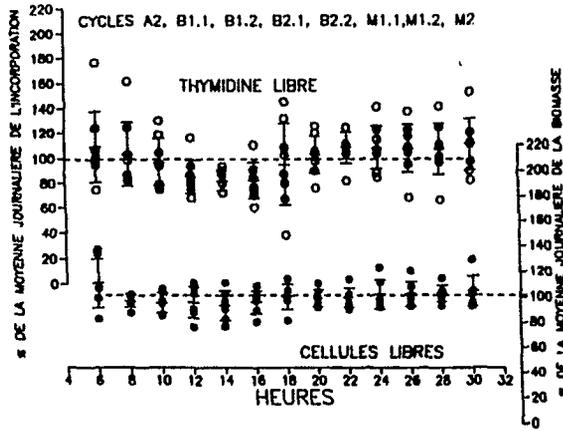


Figure 3.13 : Evolution nycthémerale moyenne dans l'enceinte.

(B) : Abondance et activité d'incorporation de thymidine de la communauté libre. (C) : Abondance et activité d'incorporation de thymidine de la communauté fixée. Chaque point est exprimé en % de la moyenne journalière. Les points des cycles A1, B1.1, B1.2 et M1 espacés de 3 heures ont été extrapolés toutes les 2 heures par interpolation linéaire pour les homogénéiser avec les cycles suivants.

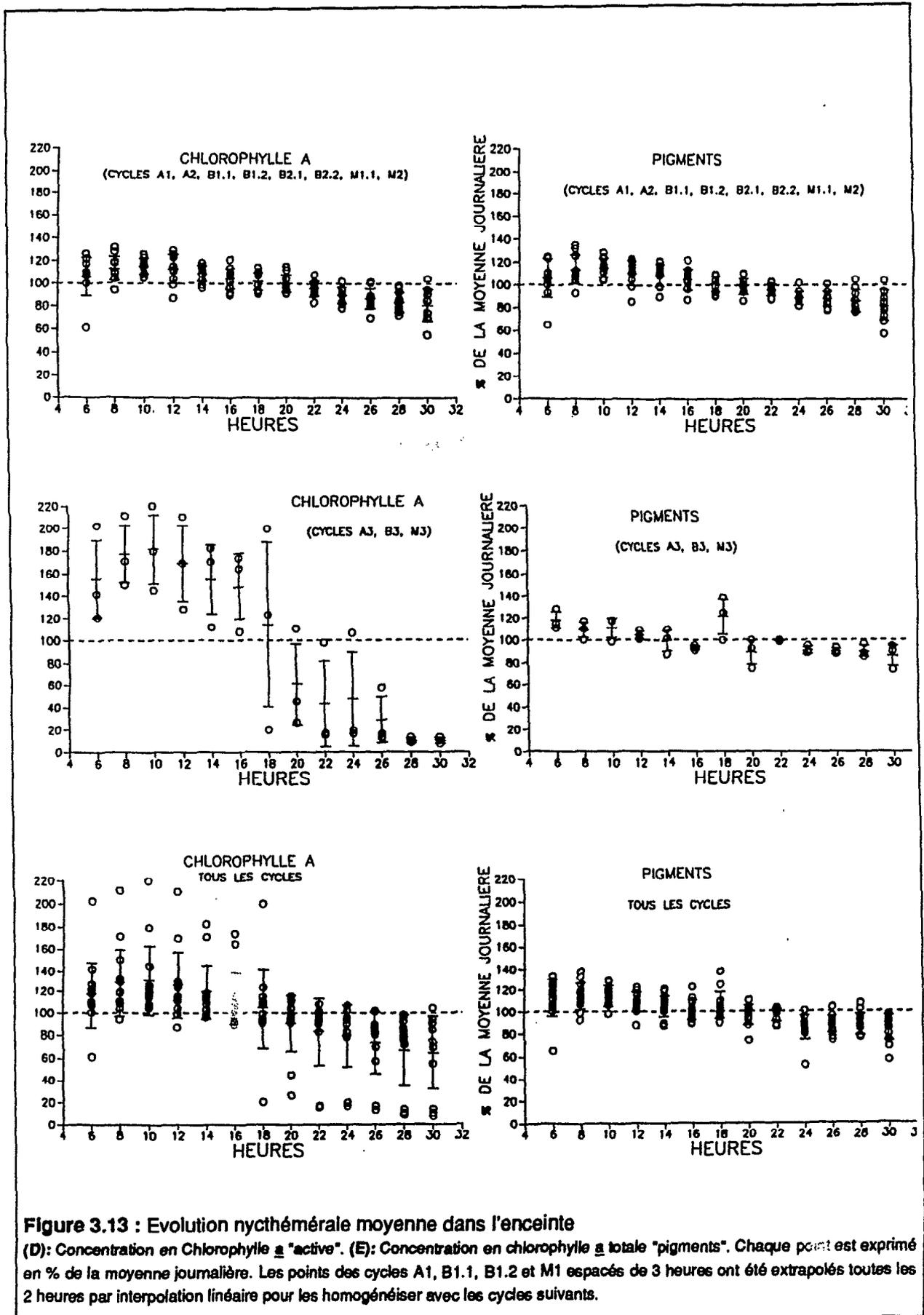


Figure 3.13 : Evolution nycthémerale moyenne dans l'enceinte

(D): Concentration en Chlorophylle a "active". (E): Concentration en chlorophylle a totale "pigments". Chaque point est exprimé en % de la moyenne journalière. Les points des cycles A1, B1.1, B1.2 et M1 espacés de 3 heures ont été extrapolés toutes les 2 heures par interpolation linéaire pour les homogénéiser avec les cycles suivants.

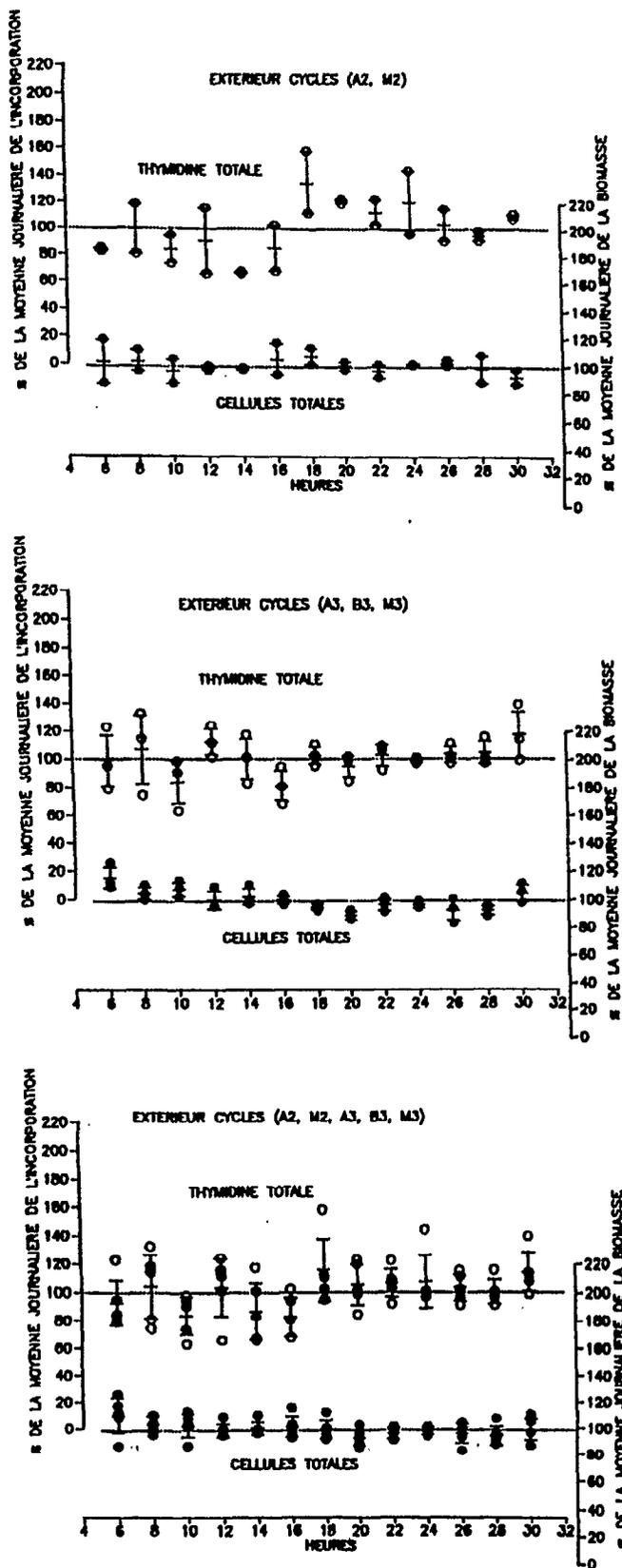


Figure 3.14 : Evolution nycthémerale moyenne à l'extérieur de l'enceinte .

(A): Biomasse et activité d'incorporation de thymidine de la communauté totale. Chaque point est exprimé en % de la moyenne journalière.

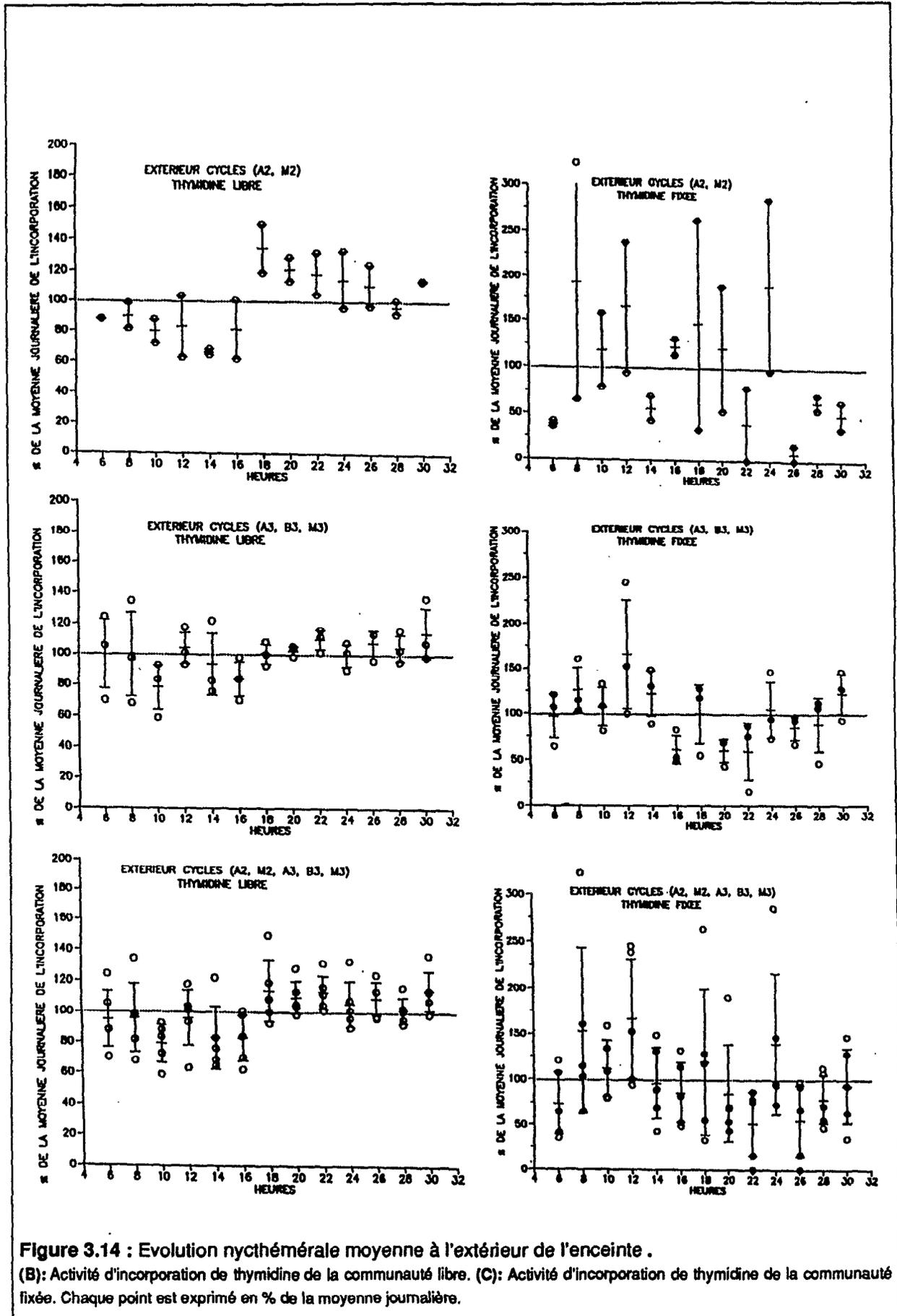


Figure 3.14 : Evolution nyctémérale moyenne à l'extérieur de l'enceinte .

(B): Activité d'incorporation de thymidine de la communauté libre. (C): Activité d'incorporation de thymidine de la communauté fixée. Chaque point est exprimé en % de la moyenne journalière.

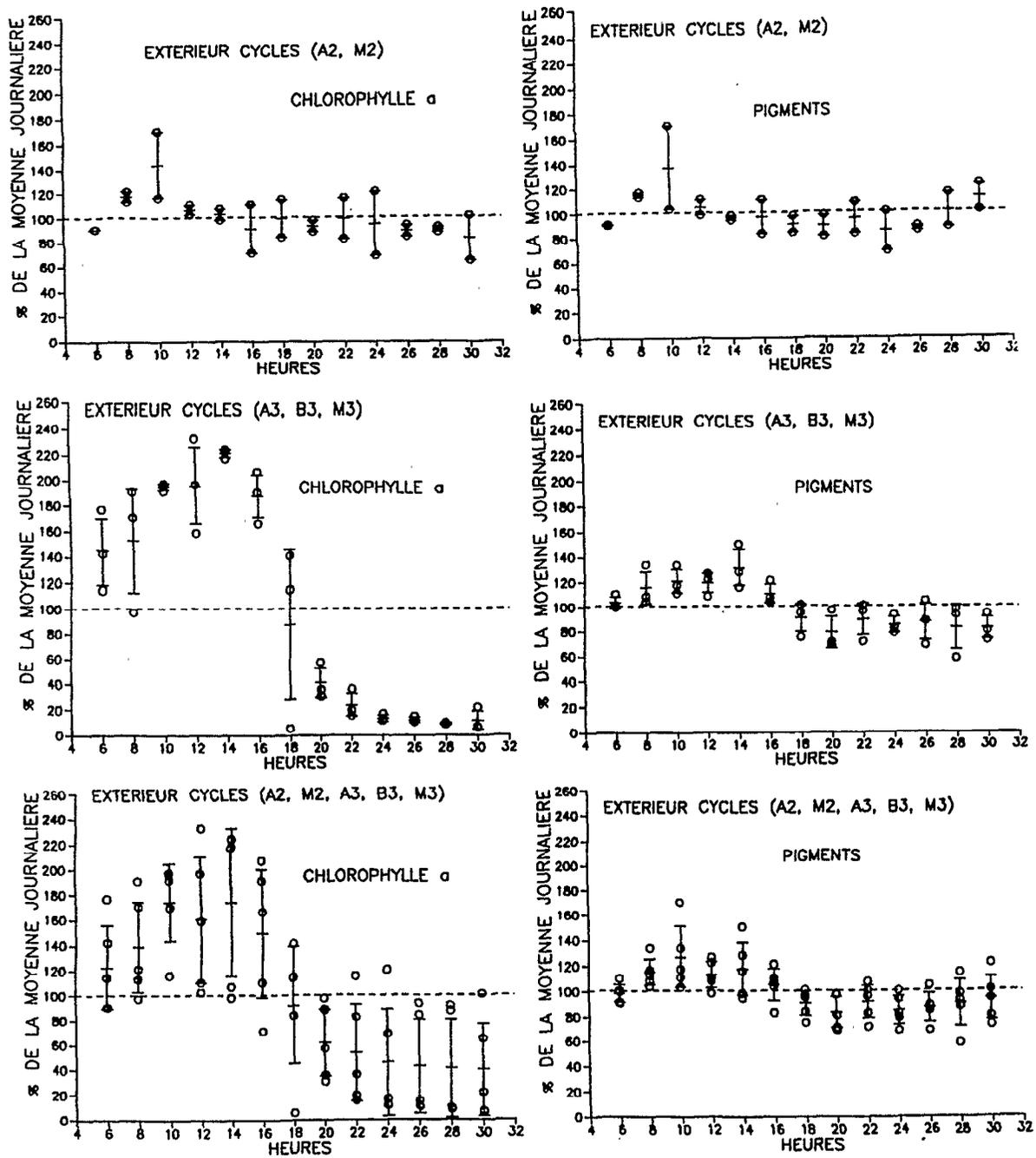


Figure 3.14 : Evolution nycthémerale moyenne à l'extérieur de l'enceinte .

(D): Concentration en Chlorophylle a "active". (E): Concentration en chlorophylle a totale "pigments". Chaque point est exprimé en % de la moyenne journalière.

A l'extérieur (tab. 3.13), les tendances sont comparables pour les paramètres phytoplanctoniques. Les concentrations moyennes en pigments photosynthétiques sont en effet plus faibles de nuit que de jour. De même, la production totale de biomasse bactérienne est significativement plus forte de nuit ($P < 0.05$) et la différence Nuit/Jour est, là encore, plus marquée au niveau de la communauté libre ($P < 0.001$). Par contre, la production de biomasse attribuée aux bactéries fixées semble plus faible de nuit ($P < 0.05$) que de jour à l'opposé de ce qui est observé dans l'enceinte. De même, l'abondance totale déterminée à l'extérieur semble significativement ($P < 0.01$) plus faible de nuit.

En résumé, dans l'enceinte expérimentale comme à l'extérieur, la productivité bactérienne totale est plus forte de nuit que de jour. Cette différence est accentuée dans le cas de la communauté libre. Des résultats contradictoires sont obtenus pour la production des communautés fixées, effectivement plus élevée de nuit dans l'enceinte, mais paradoxalement moindre la nuit à l'extérieur. Il est probable que la resuspension du matériel sédimenté occasionnée par le vent s'établissant de jour soit limitée dans l'enceinte par rapport au milieu environnant. Cette resuspension dans le milieu environnant n'a probablement pas d'influence directe sur la production bactérienne mais plutôt sur la biomasse des communautés fixées. Toutefois, la mesure de la production des communautés fixées par l'incorporation de thymidine est bien plus précise que l'estimation de la biomasse fixée et du carbone particulaire, ce qui explique vraisemblablement que cette tendance ne soit perçue que sur la production bactérienne de biomasse. Quoi qu'il en soit, ces différences sont beaucoup moins prononcées que celles observées pour la communauté libre. Cette différence d'évolution nycthémerale des fractions libres et fixées confirme leur relative indépendance. Il est vraisemblable que l'activité des communautés fixées soit moins influencée par les variations à court terme de la disponibilité nutritive dans le milieu.

D'une manière générale la productivité varie plus que la biomasse bactérienne (Tab. 3.12 et 3.13, fig. 3.13 et 3.14), ce qui est reflété par les variations marquées de l'activité spécifique et tend à confirmer le contrôle de la biomasse bactérienne par les exportations.

L'estimation de l'ordre de grandeur de certaines des sources nutritives autochtones (production primaire dissoute et excrétion zooplanctonique) a permis d'établir leur influence probable sur les fluctuations de l'activité bactérienne.

b. Relation probable avec les sources nutritives

Relation avec l'excrétion phytoplanctonique

Depuis l'introduction du concept de la boucle microbienne (Azam *et al.*, 1983), l'idée qui prévaut est que l'activité hétérotrophe bactérienne dans les océans repose sur l'utilisation d'une part importante du matériel excrété par les producteurs primaires. Cette notion a été, depuis, étendue aux milieux limniques où de nombreux auteurs ont montré que l'incorporation d'excrétats produits par le phytoplancton représentait une large part de l'activité hétérotrophe bactérienne (Cole *et al.*, 1982 ; Coveney, 1982 ; Sondergaard *et al.*, 1985 ; Riemann & Sondergaard, 1986), bien que dans certains milieux une demande hétérotrophe excessive implique des apports importants de matière organique allochtone (Scavia & Laird, 1987). De fait, la plupart des études des variations nyctémérales d'activité bactérienne hétérotrophe montrent un maximum de jour coïncidant avec la période de production photosynthétique (voir réf. plus haut).

En lagune Ebrîé, l'évolution journalière de la productivité bactérienne est en opposition de phase avec la production photosynthétique. A moins de faire intervenir une latence bactérienne, peu compatible avec les taux de croissance élevés dans ces eaux lagunaires, le couplage bactéries/phytoplancton ne repose donc probablement pas sur l'excrétion (ou production dissoute) phytoplanctonique. Plusieurs arguments viennent étayer cette observation :

(1) En supposant que la productivité bactérienne soit constante de 0 à 3 m (voir chap. profils) celle-ci représenterait 36 à 130% de la production particulaire brute phytoplanctonique en Baie d'Abou-Abou, 35 à 99% à Biétri et 21 à 64% à Mopoyem (Tab. 3.14).

Tableau 3.14 : Production primaire et production bactérienne intégrées par m² dans l'enceinte et dans le milieu environnant.

	Eclaircement total Incident Wh m ⁻²	ENCEINTE colonne d'eau 0-3m			EXTERIEUR colonne d'eau 0-3m		
		Production Primaire gC m ⁻² j ⁻¹	Production Bactérienne gC m ⁻² j ⁻¹	Prod.Bact. /Primaire %	Production Primaire gC m ⁻² j ⁻¹	Production Bactérienne gC m ⁻² j ⁻¹	Prod.Bact. /Primaire %
A1.1	6072	1.94	0.78	40	2.32	ND	
A1.2	5851	1.61	0.77	48			
A2	6116	0.79	1.01	129	1.13	0.84	75
A3	5466	0.89	0.32	36	1.98	0.50	25
B1.1	4293	2.01	1.82	91	2.66	ND	
B1.2	3990	1.86	1.85	99			
B2.1	5744	3.94	2.63	67	5.21	ND	
B2.2	6961	2.98	2.84	95			
B3	5881	3.74	1.30	35	6.20	1.82	29
M1.1	2940	1.35	0.57	43	1.66	ND	
M1.2	6789	2.43	0.51	21			
M2	7153	1.47	0.46	31	2.16	0.70	32
M3	5019	0.71	0.45	64	1.31	0.63	48

Si l'on admet un rendement de croissance bactérien de 60% (cf. chap. Etalonnage), la demande hétérotrophe bactérienne serait pratiquement double. Il faudrait faire intervenir un rapport production primaire dissoute / production particulaire excessivement fort pour soutenir cette demande.

(2) Une estimation de l'excrétion phytoplanctonique peut être obtenue en comparant les valeurs de production primaire obtenues par l'estimation de la production d'oxygène et de la fixation autotrophe de ^{14}C dans le matériel particulaire. La production d'oxygène lorsqu'elle corrigée de la respiration et de la photorespiration fournit une production brute totale (production brute particulaire et dissoute). La fixation autotrophe de ^{14}C donne une estimation comprise entre production brute et production nette selon l'équilibre isotopique atteint pendant l'incubation. Pour des temps d'incubation courts comme ceux utilisés en lagune (2 à 3h) elle est très proche d'une production brute particulaire (Davies & Williams, 1984). La fixation autotrophe de ^{14}C dans le matériel particulaire donne donc une estimation de la production brute particulaire. La comparaison des deux mesures permet donc d'estimer l'importance de la production dissoute au quotient photosynthétique (QP = production d'oxygène/fixation de CO_2) près.

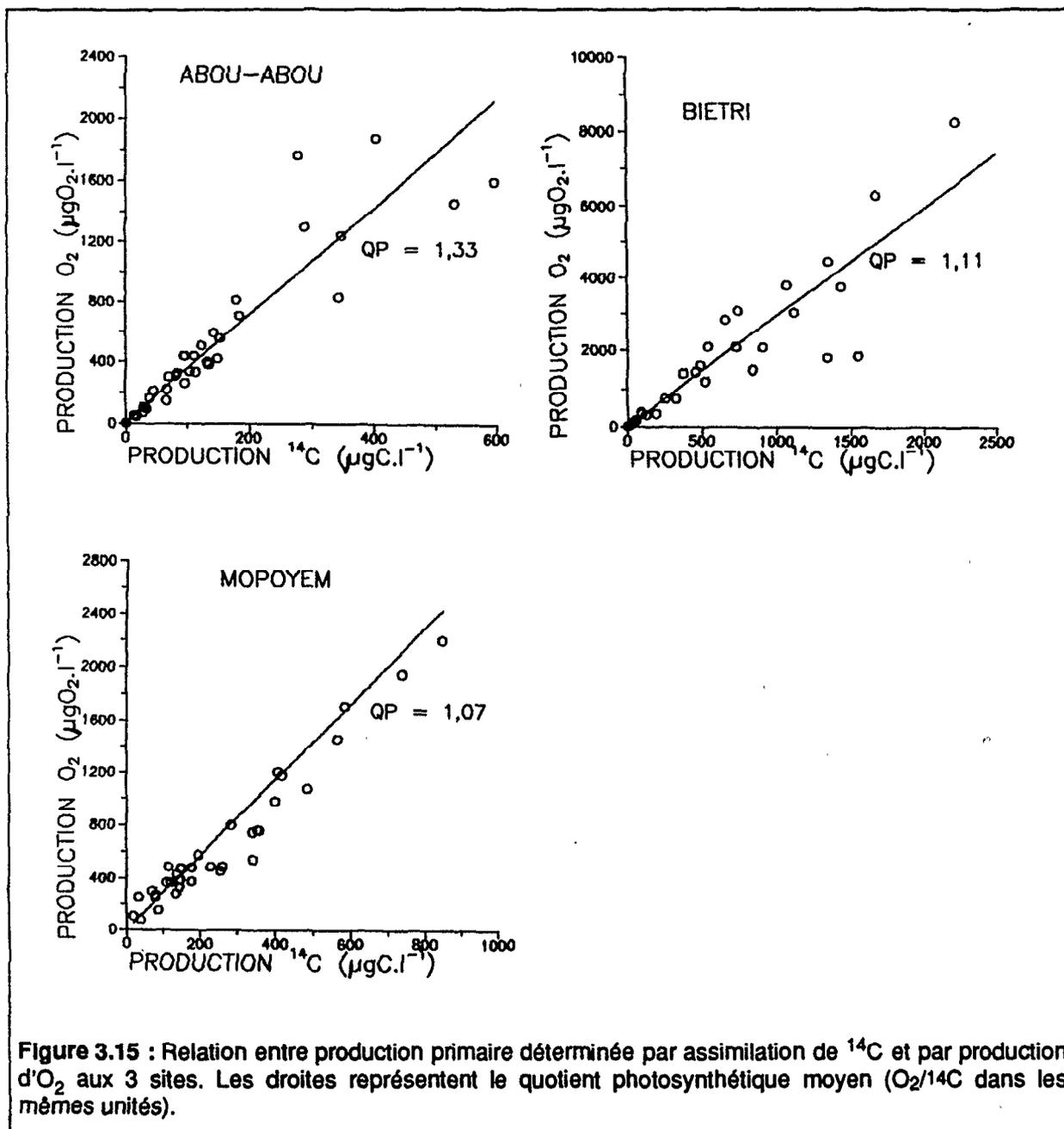
Celui-ci dépend de l'état de réduction du carbone dans les produits terminaux synthétisés par la cellule algale, de l'état de réduction de la source d'azote et du rapport carbone/azote des produits terminaux de la photosynthèse (Davies & Williams, 1984, Williams & Robertson, 1991). Le quotient théorique calculé à partir de la composition chimique de trois groupes taxonomiques d'algues donne des valeurs de QP comprises entre 1,07 et 1,30 sur NH_4^+ et 1,35 et 1,54 sur NO_3^- , valeurs comparables à celles déterminées sur des cultures d'algues axéniques (Langdon, 1988). Une excrétion phytoplanctonique importante augmenterait la production déterminée par l'oxygène (production dissoute + particulaire) pour une production au ^{14}C donnée (production particulaire), aboutissant ainsi à un quotient photosynthétique sensiblement plus élevé (Williams & Robertson, 1991).

Les QP apparents déterminés au cours de cette étude sont en moyenne de 1,33 ($\sigma=0,34$, $n=34$) en Baie de Abou-Abou, de 1,11 ($\sigma=0,32$, $n=27$) en Baie de Biétri et de 1,07 ($\sigma=0,41$, $n=36$) à Mopoyem (Fig. 3.15). Ces valeurs, comprises entre les QP théoriques sur NH_4^+ et NO_3^- , suggèrent que l'excrétion phytoplanctonique est un phénomène mineur en lagune et dans tous les cas, qu'elle n'atteint pas l'importance nécessaire pour soutenir l'activité hétérotrophe bactérienne estimée.

Par ailleurs, en déterminant directement la production phytoplanctonique dissoute après incorporation de ^{14}C , Pagès & Lemasson (1981) ont estimé que l'excrétion phytoplanctonique journalière en lagune Ebrié, à des stations proches des sites étudiés ici, représentait de 5 à 20% de la production primaire particulaire brute. Ces faibles valeurs sont en accord avec les résultats obtenus ici.

(3) Enfin, l'incubation à l'obscurité de sous-échantillons de l'eau de l'enceinte non traités (les contrôles des expériences de prédation) montre que la biomasse et l'activité bactériennes restent constantes, ou même augmentent pendant la journée, alors que la production primaire doit y être fortement réduite. L'activité bactérienne diminuerait fortement si elle reposait sur la production phytoplanctonique dissoute.

L'hypothèse d'une activité hétérotrophe bactérienne reposant sur l'excrétion phytoplanctonique ne peut donc pas être admise pour les sites lagunaires étudiés.



Par ailleurs, même en milieu oligotrophe, l'hypothèse généralement admise d'une production bactérienne reposant essentiellement sur l'exsudation par le phytoplancton en croissance active (Azam *et al.*, 1983) a été remise en question. En effet, cette hypothèse est fondée sur des travaux de Joiris *et al.* (1982) reportant des taux d'excrétion phytoplanctonique élevés (de l'ordre de 30% de la production totale). Le protocole utilisé par ces auteurs a depuis été critiqué par Jumars *et al.* (1989), car il n'exclut pas complètement les prédateurs dont l'activité pourrait être une source de libération de carbone organique dissous. Il apparaît d'une manière générale que les fortes valeurs reportées dans la littérature résultent probablement d'artéfacts méthodologiques décrits depuis longtemps (Sharp,

1977 ; Harris, 1978). Actuellement, on admet une excrétion de l'ordre de 5% de la production phytoplanctonique totale pour des cellules en bonnes conditions de croissance (Mague *et al.*, 1980 ; Bjomsen, 1988 ; Feuillade *et al.*, 1988 ; Langdon, 1988 ; Zlotnik & Dudinsky, 1989). Les plus fortes valeurs sont mesurées lorsque le phytoplancton reçoit un fort éclairage et est carencé en nutriments, comme c'est le cas dans la couche homogène des zones océaniques (Mague *et al.*, 1980). Elles peuvent être interprétées comme un mécanisme "d'overflow". Une telle situation est peu vraisemblable dans les sites lagunaires étudiés ici, où la production est en général limitée par la lumière (Dufour *et al.*, 1981), ce qui va dans le sens des résultats présentés ici.

Relation avec l'activité zooplanctonique

L'augmentation de l'activité bactérienne de nuit coïncide avec la remontée nocturne du zooplancton. Au cours des cinq cycles où la biomasse zooplanctonique a été déterminée, on a pu observer un fort maximum de nuit (fig. 3.16). Cette remontée nocturne a déjà été constatée en lagune Ebrié (Leborgne & Dufour, 1979 ; Pagano & Saint-Jean, 1988). Le zooplancton migrant, (principalement adultes et stades copépodites d'*Acartia*) se maintient au niveau du fond pendant la journée et se répartit de manière homogène dans la colonne d'eau la nuit. Les organismes à capacité natatoire plus réduite (*Nauplii* d'*Acartia* et rotifères) ont une répartition plus homogène au cours d'un cycle journalier (Pagano & Saint-Jean, 1988). Bien que beaucoup plus sommaires, les résultats de nos dénombrements au cours des cinq derniers cycles montrent que les rapports entre abondance moyenne de nuit et de jour sont plus élevés pour les *Acartia* adultes que pour les *Nauplii* et les rotifères (Tab. 3.15).

Tableau 3.15 : Abondances moyennes de nuit et de jour du zooplancton en sub-surface

CYCLE	Abondance (individus/litre)				Abondance Totale	Biomasse Totale ($\mu\text{gC l}^{-1}$)	
	<i>Acartia</i>	<i>Nauplii</i> <i>Acartia</i>	Rotifères	Cyclopidés			
A2	jour	33.6	11.5	0.0	0.0	118.6	
	nuit	139.1	22.6	0.0	0.0	489.3	
	rapport nuit/jour	4.1	2.0			3.6	4.1
A3	jour	1.7	39.2	39.3	0.0	84.6	14.1
	nuit	6.4	59.1	34.9	0.0	100.4	31.9
	rapport nuit/jour	3.9	1.5	0.9		1.2	2.3
B3	jour	0.1	1.7	8.4	0.0	10.2	1.4
	nuit	6.5	2.4	14.7	0.0	23.7	24.6
	rapport nuit/jour	55.4	1.4	1.8		2.3	17.3
M2	jour	0.9	5.9	2.3	1.1	12.7	8.0
	nuit	2.5	8.4	8.3	1.5	20.7	15.8
	rapport nuit/jour	2.9	1.4	3.7	1.4	1.6	2.0
M3	jour	3.4	12.9	0.0	0.0	16.3	13.2
	nuit	31.5	22.0	0.0	0.0	53.3	112.3
	rapport nuit/jour	9.3	1.7			3.3	8.5

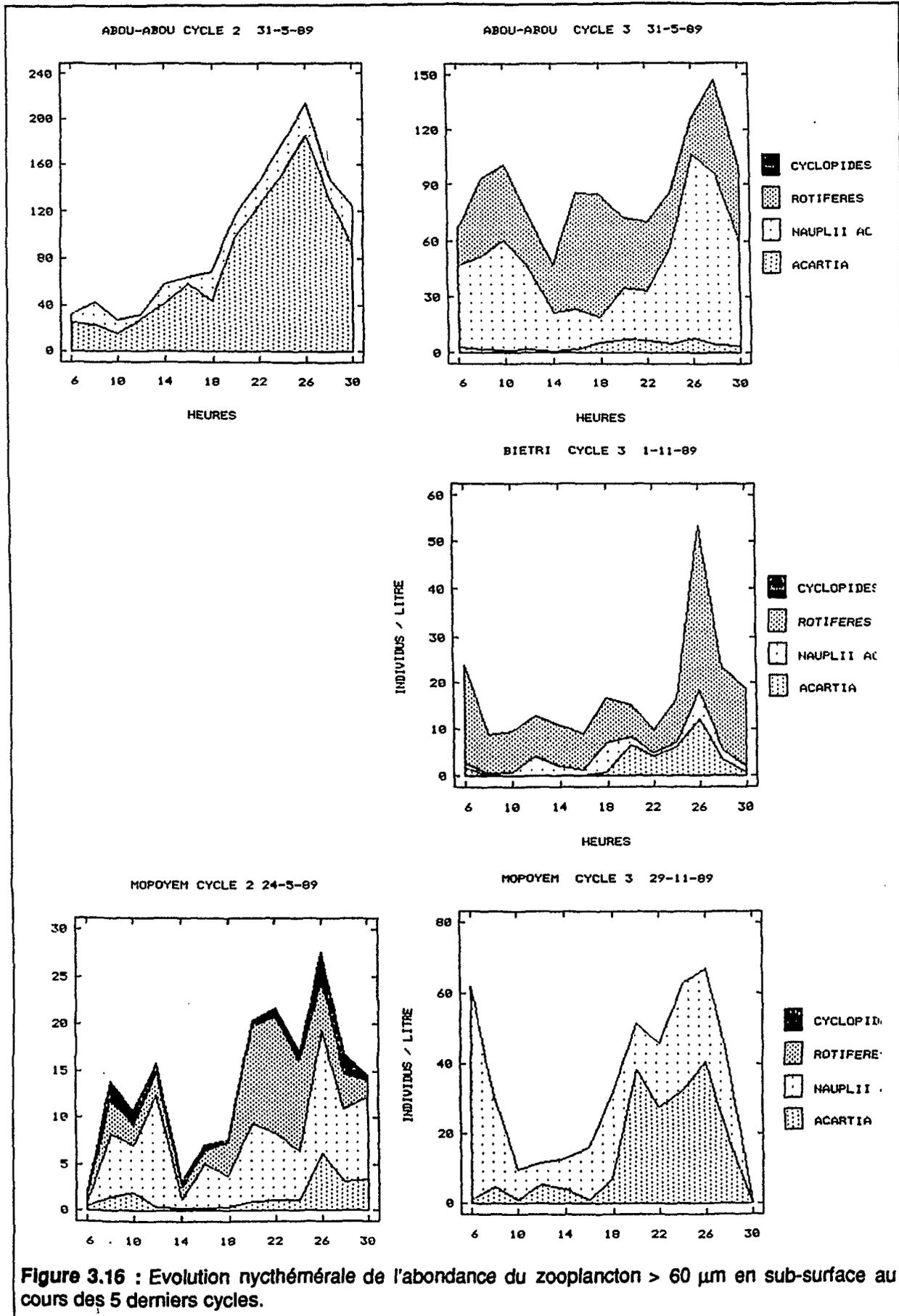


Figure 3.16 : Evolution nycthémerale de l'abondance du zooplancton > 60 µm en sub-surface au cours des 5 derniers cycles.

La coïncidence entre l'augmentation des activités bactériennes et la remontée du zooplancton permet d'envisager deux hypothèses : (1) l'activité bactérienne est stimulée par l'apport de composés organiques issus de l'activité du zooplancton, (2) la consommation des prédateurs de bactéries par le zooplancton entraîne une diminution du contrôle de la biomasse bactérienne et une augmentation consécutive de l'activité.

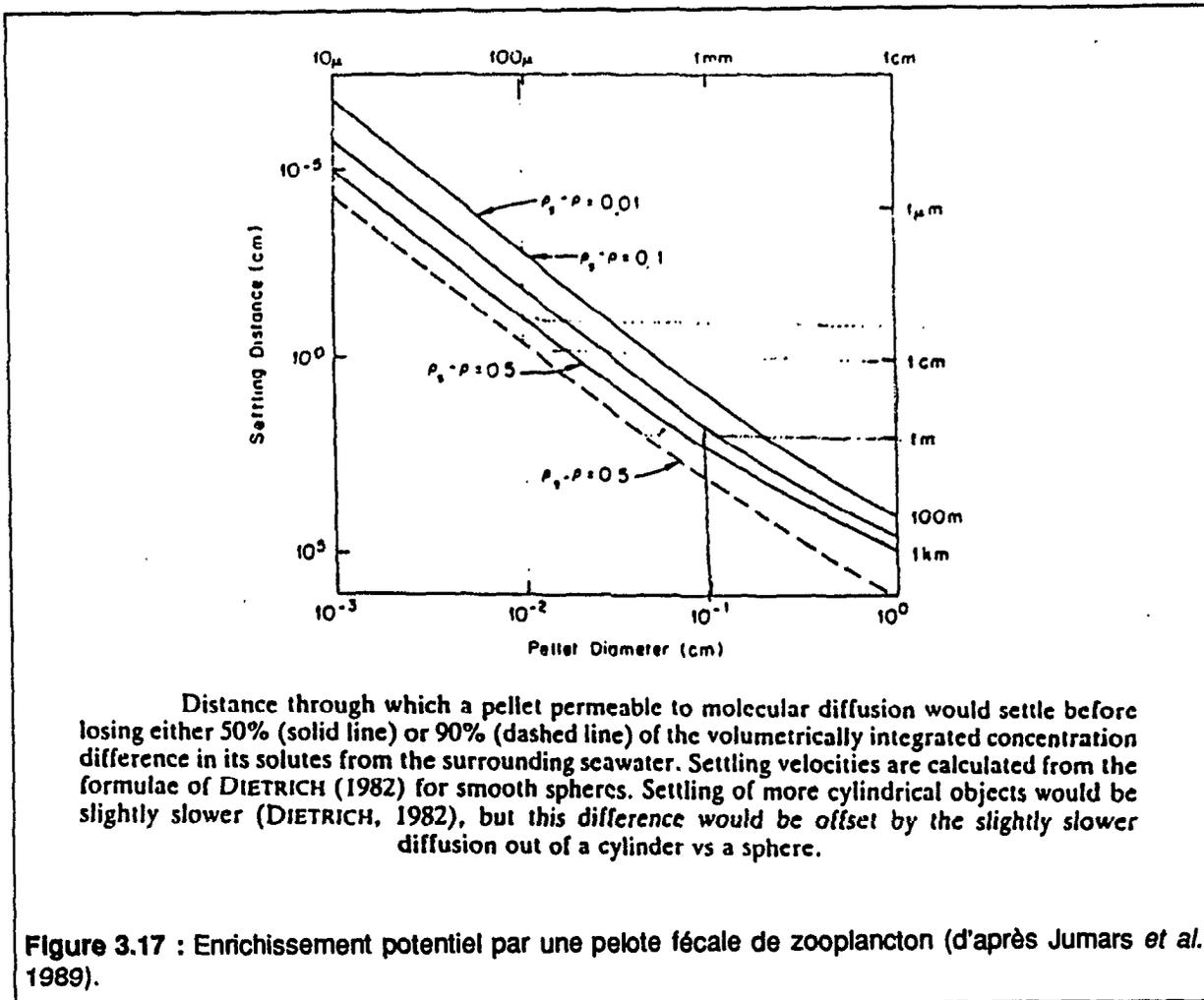
Cette dernière hypothèse n'est compatible avec la stabilité des effectifs bactériens que si la prédation par le nanoplancton hétérotrophe s'exerce préférentiellement sur les plus grosses bactéries (phénomène reporté par Andersson *et al.*, 1986 ; Newell & Turley, 1987 ; Chrzanowski & Simek, 1990 ; Gonzalez *et al.*, 1990) qui présentent en principe une activité spécifique cellulaire plus élevée. On devrait donc observer une augmentation du volume cellulaire de nuit associée à une diminution de l'activité de prédation. Dans la pratique, une augmentation du volume moyen dans les mêmes proportions que l'activité spécifique cellulaire (32% en moyenne cf Tab.3.12) a peu de chances d'être perçue, la reproductibilité des mesures de volume cellulaire moyen étant d'environ 20% (chap.2). De manière comparable, il est illusoire d'espérer percevoir une diminution comparable de l'activité de prédation à l'aide de la méthode utilisée, basée sur l'évolution des effectifs bactériens en présence d'antibiotiques (cf. chap.2). Seule la méthode MiniCap (Wikner *et al.* 1986) paraît actuellement assez sensible pour étudier les fluctuations de l'activité de prédation à court terme (Wikner *et al.* 1990).

Afin de tester la validité de la première hypothèse, on peut essayer, en combinant les données de la littérature et les observations effectuées au cours de ce travail, d'établir l'ordre de grandeur de l'enrichissement en carbone par le zooplancton dans la lame d'eau.

La destruction de cellules phytoplanctoniques lors de leur ingestion par le zooplancton ("sloppy feeding") et la libération conséquente de composés organiques facilement assimilables par les bactéries, paraît désormais bien établie (Lampert, 1978 ; Crisman *et al.*, 1981 ; Mopper & Lindroth, 1982 ; Jorgensen *et al.*, 1983 ; Lampert & Taylor, 1985 ; Riemann *et al.*, 1986). De plus, un travail récent modélisant la diffusion des composés organiques solubles à partir des pelotes fécales du zooplancton a pu montrer que l'essentiel de ces composés pouvait diffuser dans le milieu environnant l'égestion (fig. 3.17 ; Jumars *et al.* 1989). Bien que la démonstration expérimentale reste à apporter, cette hypothèse permet d'offrir une alternative au couplage phytoplancton-bactéries par le biais de l'excrétion phytoplanctonique actuellement très controversée.

D'après Pagano & Saint-Jean (1988), *Acartia clausi*, l'espèce dominante en lagune Ebré, en croissance sur nourriture naturelle (seston : 2 mgC l⁻¹) ingèrerait quotidiennement une quantité de carbone équivalente à 150% de son poids carboné. Sur cette proportion totale, 26% seulement aboutiraient en biomasse zooplanctonique, 46% seraient rejetés sous forme de fèces et 78% seraient respirés ou excrétés. D'après la revue de Jumars *et al.* (1989), la libération de carbone résultant de l'ingestion (sloppy feeding) et de l'égestion de fèces excède 10% et peut atteindre 30%. En supposant (1) que les valeurs maximales du zooplancton en surface de nuit représentent la meilleure estimation de la biomasse zooplanctonique totale (Pagano & Saint-Jean, 1988) et (2) que les bilans calculés pour un zooplancton à *Acartia* dominant s'appliquent à nos données, (3) que l'essentiel de la libération est

effectuée de nuit, il est possible d'estimer l'enrichissement potentiel en carbone organique nécessaire pour expliquer le surcroît d'activité bactérienne de nuit.



Notons que cet enrichissement de nuit n'implique pas une activité de broutage exclusivement sur la même période. Chez *A. clausi* le maximum de réplétion est observé à 16 h, l'essentiel de la nutrition est donc effectué de jour dans les couches proches du sédiment (Pagano & Saint-Jean, 1985). Les données obtenues au cours de notre étude montrent d'ailleurs qu'une sédimentation constante et l'arrêt de la production primaire de nuit suffisent à expliquer la baisse nocturne des concentrations en pigments photosynthétiques sans faire intervenir la consommation par le zooplancton. Associé à un temps d'évacuation de 2 heures (Pagano & Saint-Jean, 1985), le maximum de réplétion à 16 h entraînerait un maximum d'égestion de pelotes fécales vers 18 h, correspondant à la remontée zooplanctonique en surface.

Tableau 3.16 : Comparaison de la demande hétérotrophe avec la libération possible de carbone organique par le biais de l'activité zooplanctonique.

CYCLE		Production Bactérienne		Demande Hétérotrophe Libre (b,e)	Biom. du Zoop. Max. de Nuit $gC\ m^{-2}$	Ingestion (a,c)	Egestion de fèces (a,d)	COD libéré	
		Totale (a)	Libre (a)					10% (a)	30% de l'ingestion (a)
A2	N+J (a)	0.84	0.78						
	jour (b)	0.31	0.28						
	nuît (b)	0.53	0.49						
	N-J (b)	0.22	0.21	0.35	2.07	3.10	0.95	0.31	0.93
M2	N+J (a)	0.70	0.64						
	jour (b)	0.34	0.30						
	nuît (b)	0.36	0.35						
	N-J (b)	0.02	0.05	0.08	0.11	0.15	0.05	0.02	0.05
A3	N+J (a)	0.50	0.43						
	jour (b)	0.26	0.21						
	nuît (b)	0.24	0.22						
	N-J (b)	-0.02	0.006	0.01	0.11	0.17	0.05	0.02	0.05
B3	N+J (a)	1.82	1.32						
	jour (b)	0.91	0.62						
	nuît (b)	0.91	0.70						
	N-J (b)	0.00	0.08	0.14	0.15	0.23	0.07	0.02	0.07
M3	N+J (a)	0.63	0.53						
	jour (b)	0.28	0.23						
	nuît (b)	0.35	0.30						
	N-J (b)	0.06	0.07	0.11	0.46	0.69	0.21	0.07	0.21

(a) : $gC/m^2/24h$, (b) : $gC/m^2/12h$, (c) : En supposant 1,5 gC ingéré/24h/ gC zooplanctonique (Pagano & Saint-Jean, 1988), (d): En supposant une égestion de 0,46 $gC/24h/gC$ (Pagano & Saint-Jean, 1988), (e): avec un rendement de 60% (chap.2).

Les calculs, présentés Tab. 3.16, montrent que l'activité zooplanctonique peut provoquer un enrichissement potentiel en carbone organique du même ordre de grandeur que le surcroît de la demande nocturne de la microflore bactérienne hétérotrophe libre si l'on admet une efficacité de croissance bactérienne de 60%. Cette approximation grossière ne constitue évidemment pas une preuve de la relation entre activité zooplanctonique et augmentation d'activité bactérienne de nuit. Toutefois, la compatibilité relative des données suggère qu'il s'agit d'une hypothèse admissible et, dans tous les cas, d'un axe de recherches intéressant.

Une augmentation de la productivité bactérienne en relation avec un accroissement de l'activité zooplanctonique n'a été que rarement constatée (Riemann *et al.*, 1986). Cette relation ne peut vraisemblablement être observée que lorsque les assemblages bactériens présentent un temps de génération du même ordre que la durée de l'enrichissement.

Ces calculs montrent, par ailleurs, que dans ces eaux lagunaires l'essentiel de la demande hétérotrophe ne peut pas, non plus, être expliquée par l'activité zooplanctonique. Le résultat ne saurait surprendre dans la mesure où il semble établi que le zooplancton ne consomme qu'une faible part de la production primaire nette en lagune Ebré (Pagano & Saint-Jean, 1988).

V. CONCLUSIONS

Les objectifs de cette étude étaient : (1) de définir la représentativité d'une mesure ponctuelle de production et de biomasse bactérienne, (2) d'estimer les sources probables de l'activité hétérotrophe, (3) d'estimer l'importance relative des différentes exportations, (4) de préciser certaines caractéristiques des activités microbiennes (notamment les proportions libres et fixées) aux différents sites et époques étudiés. On peut enfin s'interroger sur la validité de l'approche employée et des biais qu'elle comporte.

1. Validité de l'approche en mésocosme

a. Avantages

La masse d'eau est conservée. L'hydrodynamisme n'a plus d'influence sur l'évolution des paramètres mesurés. Des rythmes nyctéméraux d'activité de croissance bactérienne sont mis clairement en évidence, alors que la biomasse reste relativement stable (fig. 3.13 et 3.14). L'évolution des activités bactériennes à l'extérieur de l'enceinte est comparable, bien que les rythmes soient moins nets qu'à l'intérieur de l'enceinte. Deux phénomènes peuvent expliquer ces différences : (1) les rythmes peuvent être en partie masqués par le bruit de fond dû à la variabilité spatiale à l'extérieur ; (2) l'épuisement des ressources notamment par diminution des apports latéraux peut exagérer les rythmes (c'est probablement le cas en saison des crues où les activités bactériennes tendent à s'épuiser dans la journée).

L'absence de courants dans l'enceinte permet de supprimer la sous-estimation des flux de sédimentation déterminés dans le milieu environnant à l'aide de pièges fixes. On se rapproche des flux obtenus à l'aide de pièges dérivants, d'emploi plus difficile. La similitude des flux de sédimentation à l'intérieur et à l'extérieur pour les 3 derniers cycles montre toutefois que ce phénomène ne semblait pas constituer un problème pour les sites et les périodes étudiés.

b. Limites

Représentativité de la masse d'eau

La représentativité d'une masse d'eau échantillonnée dépend de la concentration et de la variabilité spatiale et temporelle des organismes concernés. La faible fluctuation des biomasses bactériennes et phytoplanctoniques à l'échelle de la journée permet de considérer leur distribution dans la masse d'eau confinée comme représentative de leur répartition dans les eaux lagunaires (voir tab. 3.1 et 3.2). Par contre, la biomasse du zooplancton est faible par rapport à la biomasse phytoplanctonique et, de plus, très variable au cours de la journée (Pagano & Saint-Jean, 1988). Par rapport à la moyenne journalière observée dans la lagune, le zooplancton semble sous-représenté dans l'enceinte. Sa présence dans celle-ci est, en effet, largement conditionnée par l'heure de remplissage, comme le montrent les évolutions journalières d'abondance en surface (fig. 3.16). On ne peut donc pas considérer que la relation quantitative entre phytoplancton et zooplancton dans l'enceinte est comparable à celle existant *in situ*.

Activité photosynthétique plus faible

Une réduction de la lumière de l'ordre de 20 %, due aux bouées soutenant l'enceinte, est responsable d'une diminution comparable de l'activité photosynthétique par rapport à l'extérieur (d'un

jour à l'autre l'éclairement global journalier peut varier dans des proportions bien plus importantes). Ce déséquilibre est peut être responsable de l'absence de croissance nette du phytoplancton dans l'enceinte pendant la journée, phénomène que l'on observe à l'extérieur. Il s'accroîtrait si l'utilisation de l'enceinte était prolongée car la fixation et le développement de microorganismes sur le film de polyéthylène augmentent progressivement son opacité.

La masse d'eau ne semble pas subir d'altération notable en 48 heures, comme le montre l'évolution des paramètres déterminés dans l'enceinte, très comparable d'un jour à l'autre, à l'exception du cycle B1 (Biétri, saison d'étiage) où des conditions particulières ont prévalu. En effet, au cours des deux jours successifs de cette étude, l'éclairement incident total n'a atteint que 4300 et 4400 Wh/m², contre 5500 à 7000 pour les autres cycles. Ce faible éclairement peut avoir été à l'origine de la diminution de biomasse phytoplanctonique en déplaçant l'équilibre production/sortie.

2. Caractéristiques des différents sites et époques

Les abondances bactériennes se situent, pour les trois sites, parmi les plus élevées reportées dans les milieux naturels. Les effectifs apparaissent toujours 2 à 3 fois plus élevée en baie de Biétri, le site le plus eutrophe, qu'aux deux autres sites étudiés. La production de biomasse bactérienne est également plus élevée, dans des proportions comparables, en baie de Biétri qu'aux autres sites étudiés et situe la lagune Ebrié parmi les milieux les plus productifs étudiés. Paradoxalement, les volumes cellulaires moyens (0,1 - 0,12 μm^3), bien que typiques des milieux eutrophes se situent dans une gamme couramment reportée. Des valeurs moyennes bien supérieures ont été reportées en milieu eutrophe (0.185 μm^3 , Bell *et al.* 1983 ; 0.154 μm^3 , Pedros-Alio & Brock, 1983 ; 0.161 μm^3 , Nagata, 1986 ; > 0.3 μm^3 , Servais, 1987). L'explication est probablement à rechercher dans le contrôle étroit de la biomasse bactérienne par la prédation en lagune Ebrié. Dans plusieurs milieux, la prédation s'exerce en effet préférentiellement sur les bactéries de volume cellulaire élevé (Andersson *et al.*, 1986 ; Newell & Turley, 1987 ; Chrzanowski & Simek, 1990 ; Gonzalez *et al.*, 1990).

L'abondance des cellules fixées semble fortement liée à la concentration en matériel particulaire détritique aux trois sites étudiés. La proportion de cellules fixées est donc maximale en baie de Biétri et minimale en baie d'Abou-Abou. Dans les trois baies la proportion de cellules fixées est maximale au cours de la saison des crues lorsque la turbidité est maximale. Le maximum de turbidité observé en baie de Mopoyem est par ailleurs inattendu à cette période, cette baie n'étant pas sous l'influence du Comoé. La fixation ne constitue pas un avantage pour les communautés bactériennes. Les communautés bactériennes fixées présentent en effet un taux de croissance comparable à celui des bactéries libres en saisons d'étiage et de pluies aux trois sites. Dans les deux baies intéressées par la crue du Comoé (Abou-Abou et Biétri), l'activité spécifique plus faible des bactéries fixées sur particules à cette période souligne les différences de nature du matériel particulaire en suspension, probablement d'origine continentale.

3. Représentativité d'une mesure ponctuelle

La faible amplitude journalière de la production bactérienne (environ 30% autour de la moyenne, dans l'enceinte et à l'extérieur) définit la signification d'une mesure unique pour caractériser la production journalière. Cette amplitude journalière est plus forte pour la fraction fixée, surtout dans les zones où cette proportion est faible (comme en Baie d'Abou-Abou) où les incertitudes de mesures

cumulées sur les deux déterminations (bactéries libres et bactéries totales) limitent la signification de la mesure. La biomasse bactérienne est ici très stable et une mesure effectuée à une heure quelconque de la journée se situe dans un intervalle d'environ 10% autour de la moyenne journalière. Cet intervalle est du même ordre que la différence moyenne entre deux dénombrements du même échantillon.

Dans le cas des sites étudiés, l'extrapolation à la journée d'une mesure ponctuelle de biomasse et d'activité ne semble donc pas être une source importante d'erreur.

4. Contrôle de la production bactérienne: bactéries libres et fixées

Les mesures directes de prédation montrent que l'essentiel (80% en moyenne) de la production bactérienne libre semble consommée par le nano-plancton hétérotrophe. De plus, l'augmentation de la productivité bactérienne de nuit n'est pas associée à une augmentation notable de la biomasse, ce qui confirme un contrôle sévère de la biomasse bactérienne par le biais de la prédation.

La biomasse bactérienne fixée sédimente rapidement, avec une vitesse comparable à celle du carbone détritique particulaire. Il est donc peu probable que la biomasse bactérienne produite sur particules profite à la colonne d'eau en période d'agitation modérée.

Il ne semble pas y avoir d'évolution cohérente de la proportion de bactéries fixées au cours des cycles étudiés. Ainsi, la remontée nocturne du zooplancton ne semble pas avoir eu d'impact particulier sur la fraction fixée (baisse par prédation ou augmentation par apport de particules, à moins que ces deux phénomènes ne soient à peu près compensés). Il est donc peu probable qu'il contribue de manière notable au contrôle direct de la biomasse bactérienne, libre et fixée.

5. Sources de production bactérienne

La thymidine n'est probablement pas le traceur idéal pour mettre en évidence des variations nyctémérales d'activité en relation avec la variabilité des sources nutritives. En effet, l'augmentation du taux de synthèse d'ADN bactérien se situe assez en aval de l'enrichissement en nutriments dans les phénomènes cellulaires. Cette augmentation est observable en lagune Ebrié, car le temps de renouvellement moyen de l'assemblage bactérien est de l'ordre de 10-20 h. Il est peu probable que l'on puisse observer des évolutions significatives du taux de synthèse d'ADN dans les milieux où le temps de renouvellement moyen est largement supérieur à 24 h. On aurait probablement observé une influence plus marquée de la remontée du zooplancton sur l'activité hétérotrophe en suivant l'uptake d'acides aminés (Jørgensen & Bosselmann, 1988). Plusieurs arguments convergents suggèrent toutefois que le couplage production primaire-production bactérienne repose d'avantage sur l'activité de broutage ou d'égestion par le zooplancton que sur l'excrétion phytoplanctonique aux sites étudiés, bien que celui-ci ne puisse suffire, et de loin, à expliquer l'essentiel de la production bactérienne.

La production de biomasse bactérienne, et *a fortiori* l'activité hétérotrophe bactérienne montrent une importance considérable vis-à-vis de la production phytoplanctonique. Ces rapports ne peuvent être raisonnablement établis qu'en termes de production par unité de surface, ce qui nécessite l'étude de la structure verticale aux sites étudiés. Cette étude fait l'objet du chapitre suivant.

Chapitre 4 : PROFILS VERTICAUX

I. OBJECTIFS

II. METHODES

1. Echantillonnage
2. Paramètres étudiés

III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Distribution verticale des biomasses et des activités
 - a. Phytoplancton
 - b. Bactéries
 - c. Nanoplancton hétérotrophe
2. Productions et biomasses intégrées par m²
 - a. Comparaison des biomasses bactérienne et phytoplanctonique
 - b. Comparaison des productions bactérienne et phytoplanctonique
 - c. Consommations d'oxygène bactérienne et phytoplanctonique
3. Evolution des effectifs et de l'activité bactérienne dans les couches profondes

IV. CONCLUSION

I. OBJECTIFS

Une fois connue la variabilité journalière, il devient envisageable d'étudier la répartition verticale et de comparer productions bactérienne et phytoplanctonique intégrées par m² aux trois sites et aux trois époques déjà abordés, afin d'appréhender l'importance globale des flux à travers le compartiment hétérotrophe bactérien aux sites étudiés de la lagune Ebrié.

Les objectifs de cette série d'expérimentations sont donc les suivants :

- étudier la structure verticale des biomasses et activités bactériennes sur la colonne 0-3 m des trois sites étudiés,
- établir l'importance du compartiment hétérotrophe bactérien en comparant biomasses et productions bactériennes et phytoplanctoniques intégrées par m²,
- estimer la contribution de la couche inférieure à 3 m dans les parties les plus profondes des baies étudiées.

II. METHODES

1. Echantillonnage

Les prélèvements sont réalisés sur des profils verticaux, de 0 à 3 m correspondant approximativement à la profondeur moyenne en baies d'Abou-Abou et de Mopoyem et à la profondeur de la couche oxygénée en baie de Biétri. Les échantillons sont prélevés tous les 0,50 m à l'aide d'une bouteille de 5 litres montée en position horizontale.

2. Paramètres étudiés

Les paramètres physico-chimiques (pénétration lumineuse, température, conductivité et O₂ dissous) sont déterminés comme décrit au chapitre précédent.

L'abondance et la productivité des communautés bactériennes, libres et fixées sont distinguées comme décrit précédemment. La biomasse du phytoplancton est déterminée en dosant les pigments photosynthétiques. La production primaire est déterminée par incorporation de ¹⁴C et production d'O₂ *in situ* dans des flacons attachés tous les 0,50 m. L'activité respiratoire est déterminée par mesure de la consommation d'oxygène à l'obscurité à 30°C. Les concentrations en carbone et en azote particulaires sont estimées sur les échantillons bruts.

Sur les trois derniers profils effectués (A5, B5, M5), l'abondance des ciliés a été déterminée sur des échantillons d'eau préalablement fixés au glutaraldéhyde 1%. Après 24 h de sédimentation dans une cuve d'Utermohl, les ciliés colorés au rose de Bengale sont dénombrés au microscope inversé, au grossissement 400. Sur les mêmes profils, les flagellés hétérotrophes (ne présentant pas l'autofluorescence rouge typique des pigments chlorophylliens) retenus sur membrane Nucleopore de porosité 1 µm sont dénombrés en épifluorescence au grossissement 1200 après coloration au Dapi.

III. RESULTATS DISCUSSION

Au total, 13 profils ont été réalisés entre 0 et 3 m aux trois stations étudiées, selon le calendrier suivant.

Tableau 4.1 : Paramètres physico-chimiques sur la colonne d'eau 0-3 m.

Exp.	Date	Saison lagunaire	Conductivité mS cm ⁻¹	Coefficient ^a d'extinction	Couche ^b euphotique (m)
Abou-Abou					
A2	01-06-89	pluies	27.5-28.2	-0.99	4.65
A3	10-11-89	crues	2.5-3.2	-1.98	2.32
A4	22-02-90	sèche	25.1-25.7	-0.75	6.16
A5	26-02-91	sèche	34.2-34.4	nd	nd
Biétri					
B2	21-04-89	pluies	48.3-50.4	-2.45	1.88
B3	02-11-89	crues	6.7-10.6	-2.49	1.85
B4	19-03-90	sèche	47.4-50.3	-1.91	2.41
B5	20-02-91	sèche	26.6-30.2	nd	nd
Mopoyem					
M1	07-04-91	sèche		-0.85	5.42
M2	25-05-91	pluies	9.9-12.5	-1.06	4.34
M3	30-11-91	crues	6.0-7.9	-1.60	2.87
M4	23-03-90	sèche	5.4-9.6	-0.89	5.17
M5	24-03-91	sèche	8.8-10.2	nd	nd

^a : pente de la droite $\log(I) = aZ + \log(I_0)$ avec Z profondeur en m

^b : Z "profondeur de compensation" telle que $I_Z = 1\%$ de I_0

La profondeur de la couche euphotique est pratiquement toujours supérieure à 3 m en baies d'Abou-Abou et de Mopoyem (Tab. 4.1). Seule la baie de Biétri présente une couche euphotique de profondeur inférieure à 3 m, les valeurs exprimées en % de la moyenne pour chaque profil ont donc été classées entre zone euphotique et zone aphotique afin de les comparer (Tab. 4.3).

Tableau 4.2 : Valeurs moyennes des principaux paramètres obtenus sur les profils de 0 à 3 m.

PROFIL		-- pigments --		--- Incorporation de thymidine ---				---- Abondance bactérienne ----				Resp.
		%act	%act	totale	libre	fixée	%fixé	totale	libre	fixée	%fixé	
A2	moyenne	38	81	0.77	0.74	0.03	4	11.5	11.0	0.5	4	34
A2	écart-type	10	6	0.17	0.17	0.02	3	1.0	0.8	0.4	3	7
A2	cv%	28	8	22	23	69	67	8	7	85	79	22
A3	moyenne	23	60	0.52	0.43	0.09	18	12.3	10.6	1.8	14	21
A3	écart-type	4	6	0.06	0.07	0.02	6	1.7	1.3	0.8	5	6
A3	cv%	19	11	11	15	22	31	14	12	44	37	29
A4	moyenne	19	54	0.69	0.54	0.16	23	9.7	7.2	2.5	25	90
A4	écart-type	2	38	0.11	0.09	0.04	3	1.7	1.2	0.7	4	23
A4	cv%	9	69	16	17	23	14	18	16	30	17	25
A5	moyenne	nd	nd	0.38	0.32	0.06	16	3.9	3.5	0.4	10	nd
A5	écart-type	nd	nd	0.07	0.06	0.02	4	0.3	0.5	0.2	6	nd
A5	cv%	nd	nd	19	20	27	26	9	13	62	62	nd
B2	moyenne	64	78	2.19	1.47	0.72	33	28.0	18.8	9.1	32	111
B2	écart-type	28	3	0.53	0.40	0.21	6	4.3	2.7	2.7	6	70
B2	cv%	44	4	24	27	29	18	15	14	30	18	63
B3	moyenne	50	74	1.49	1.16	0.34	23	22.0	16.2	5.7	25	169
B3	écart-type	3	2	0.43	0.34	0.11	4	4.8	3.2	2.2	7	70
B3	cv%	7	3	29	30	33	16	22	20	38	28	41
B4	moyenne	66	91	1.47	1.23	0.24	16	26.4	22.0	4.4	17	205
B4	écart-type	11	4	0.46	0.40	0.07	3	0.4	0.6	0.7	2	107
B4	cv%	16	5	31	32	31	19	1	3	16	15	52
B5	moyenne	nd	nd	2.29	1.64	0.65	28	12.2	9.7	2.5	20	nd
B5	écart-type	nd	nd	0.34	0.25	0.24	8	1.5	1.1	1.0	6	nd
B5	cv%	nd	nd	15	15	37	27	12	11	39	32	nd
M1	moyenne	32	105	0.50	0.39	0.11	22	nd	nd	nd	nd	71
M1	écart-type	2	8	0.10	0.08	0.03	6	nd	nd	nd	nd	27
M1	cv%	5	7	20	21	32	26	nd	nd	nd	nd	38
M2	moyenne	60	92	0.75	0.69	0.06	8	9.8	9.2	0.6	6	66
M2	écart-type	14	2	0.04	0.06	0.03	4	0.5	0.7	0.5	5	13
M2	cv%	24	3	5	8	59	58	5	7	93	89	20
M3	moyenne	32	39	0.62	0.48	0.13	22	9.7	8.1	nd	16	37
M3	écart-type	3	29	0.06	0.07	0.04	6	0.3	0.2	nd	4	23
M3	cv%	9	75	10	15	28	29	3	3	nd	22	61
M4	moyenne	13	85	0.44	0.38	0.06	15	nd	6.1	nd	14	nd
M4	écart-type	4	11	0.10	0.09	0.02	3	nd	0.7	nd	3	nd
M4	cv%	27	13	23	24	32	22	nd	12	nd	19	nd
M5	moyenne	nd	nd	0.58	0.46	0.12	21	4.6	4.1	0.5	11	nd
M5	écart-type	nd	nd	0.15	0.13	0.02	3	0.7	0.6	0.3	6	nd
M5	cv%	nd	nd	26	29	20	15	16	14	60	54	nd

nd : non déterminé, cv% : coefficient de variation

Pigments : $\mu\text{g l}^{-1}$, thymidine : $\text{nmol l}^{-1}\text{h}^{-1}$, abondance : $10^9\text{cellules l}^{-1}\text{h}^{-1}$, respiration : $\mu\text{gO}_2\text{ l}^{-1}\text{h}^{-1}$

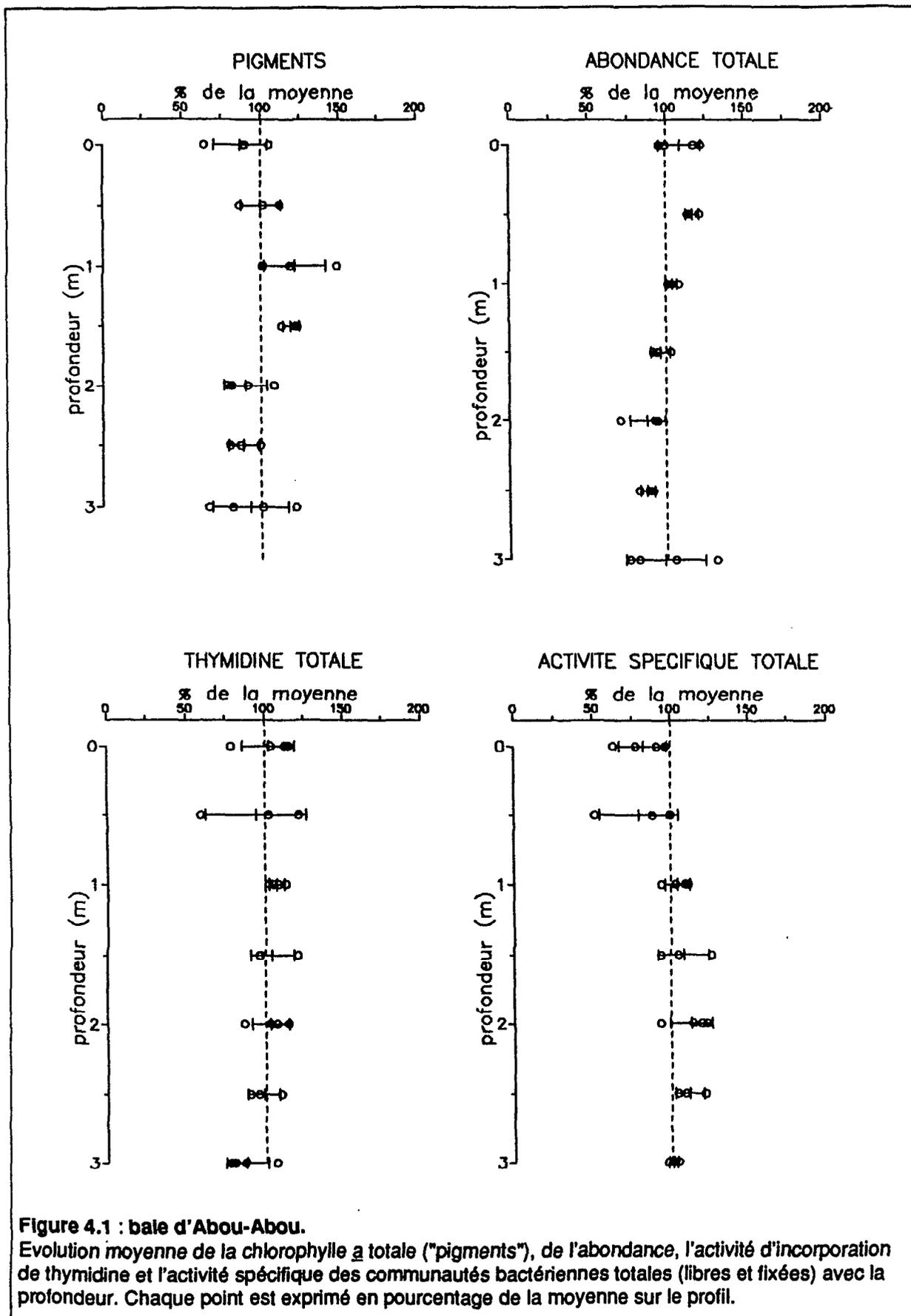


Figure 4.1 : baie d'Abou-Abou. Evolution moyenne de la chlorophylle a totale ("pigments"), de l'abondance, l'activité d'incorporation de thymidine et l'activité spécifique des communautés bactériennes totales (libres et fixées) avec la profondeur. Chaque point est exprimé en pourcentage de la moyenne sur le profil.

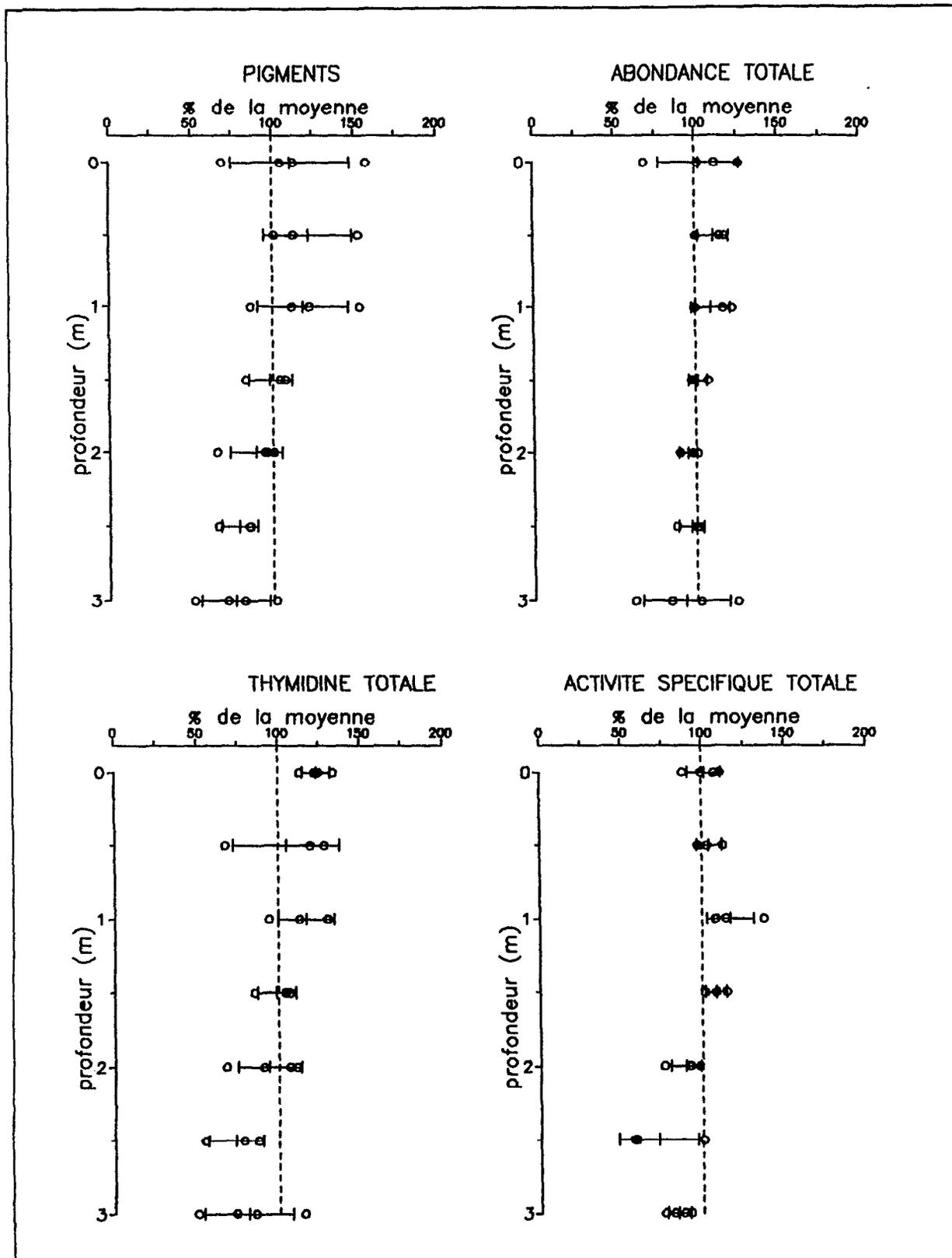
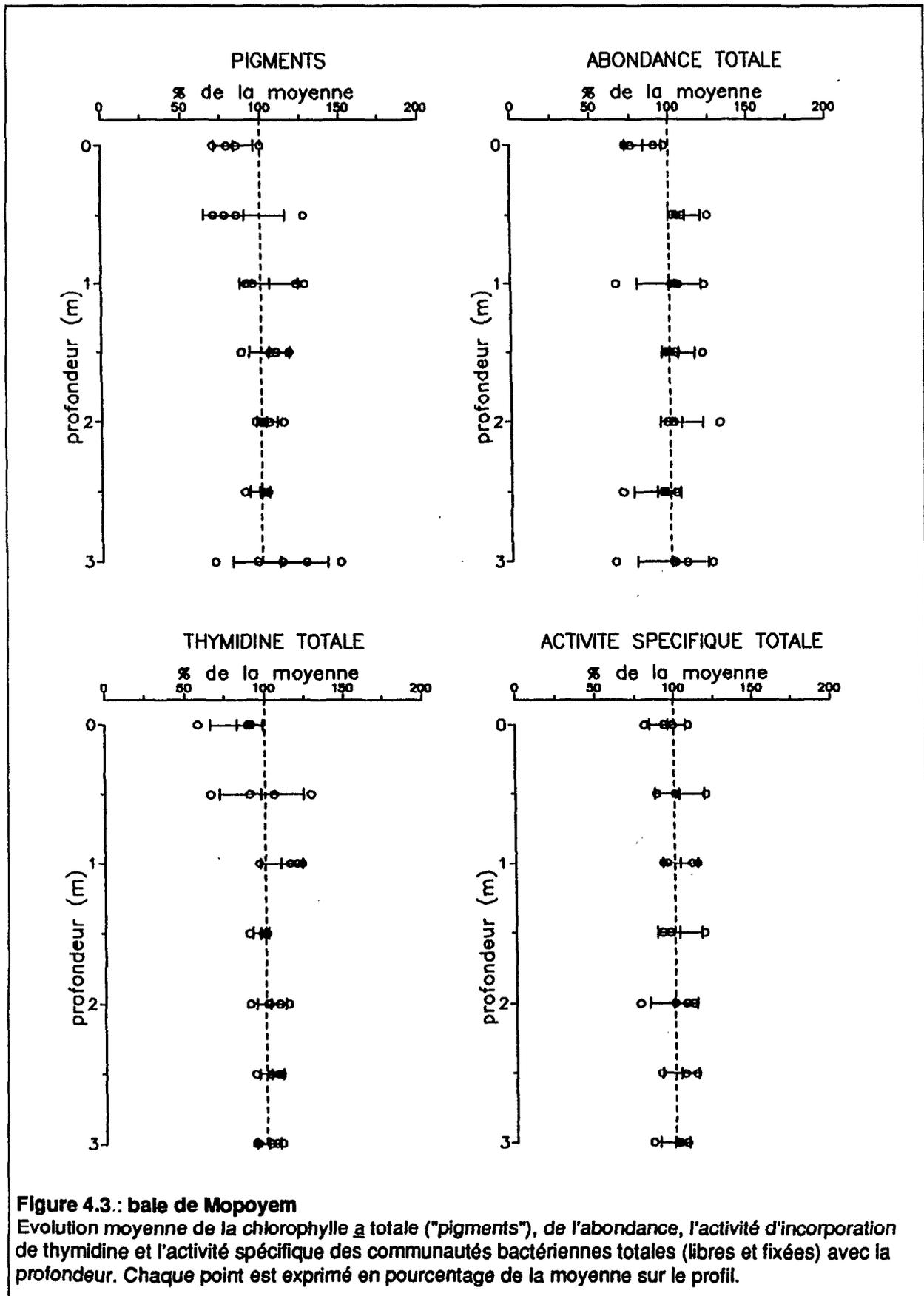


Figure 4.2 : baie de Blétri.

Evolution moyenne de la chlorophylle *a* totale ("pigments"), de l'abondance, l'activité d'incorporation de thymidine et l'activité spécifique des communautés bactériennes totales (libres et fixées) avec la profondeur. Chaque point est exprimé en pourcentage de la moyenne sur le profil.



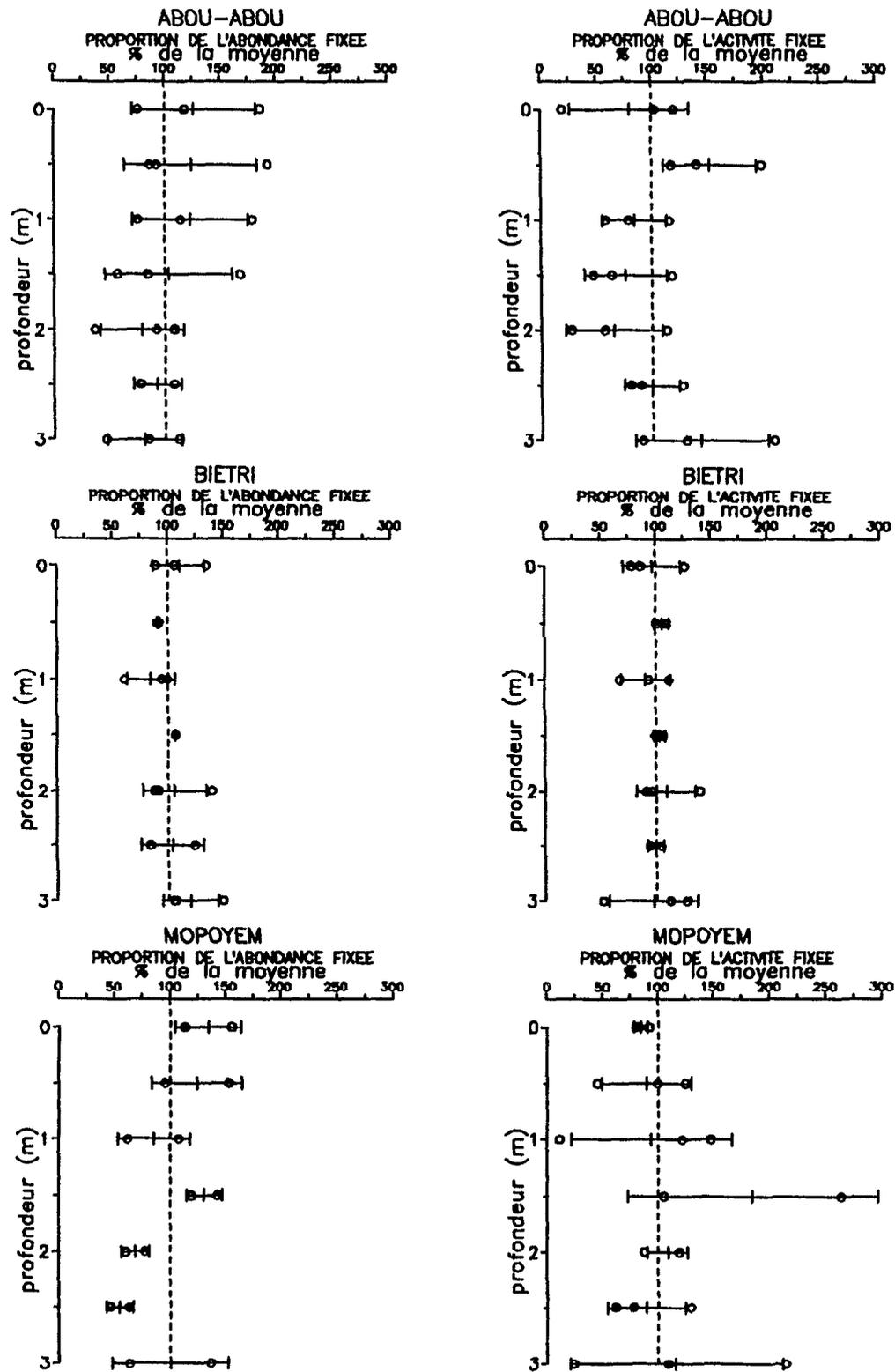


Figure 4.4 : Evolution moyenne de la proportion de biomasse et d'activité des communautés fixées.

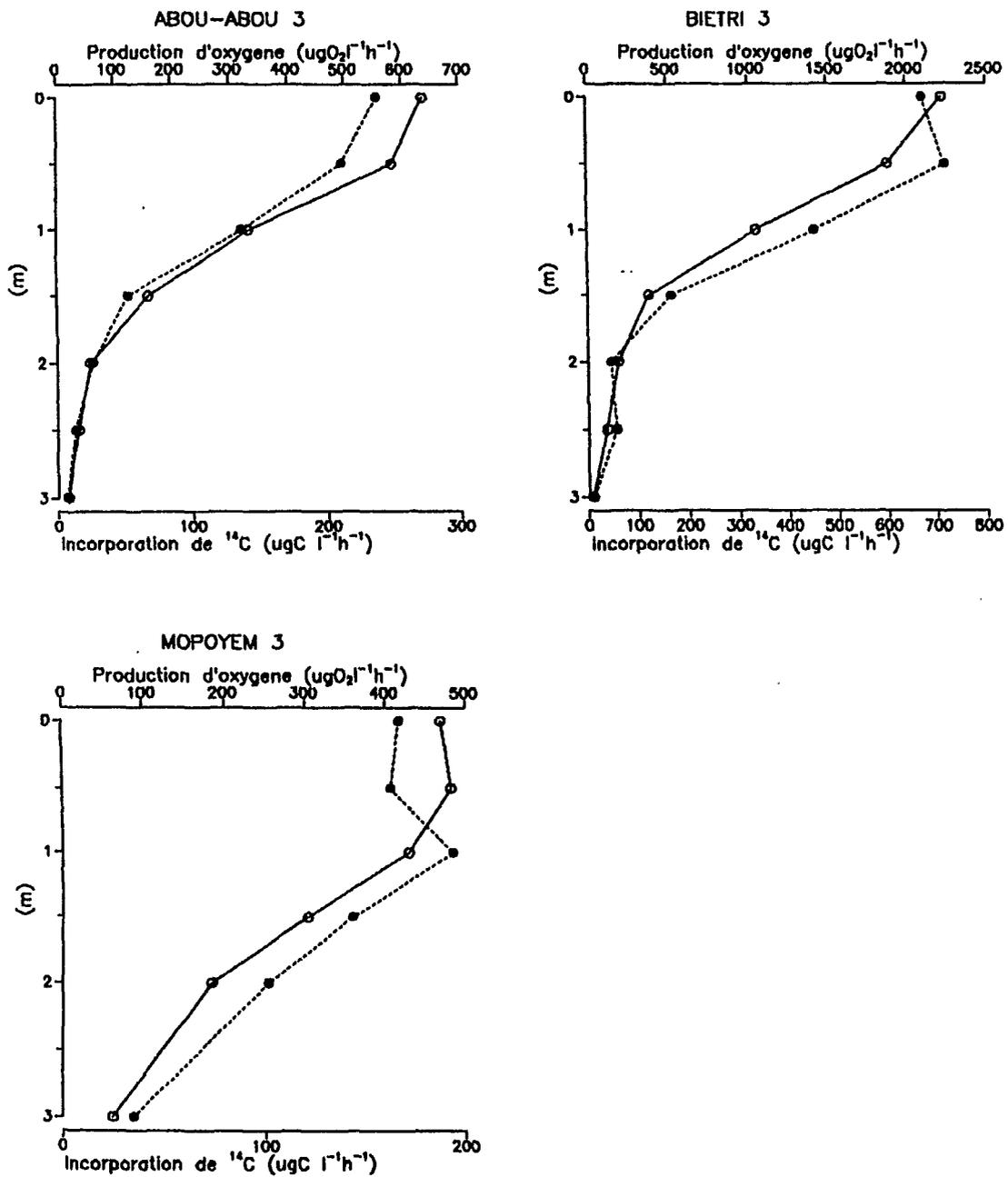


Figure 4.5 : Répartition verticale de la production primaire par incorporation de ^{14}C (●) et production d'oxygène (○) en saison des crues aux trois sites étudiés.

1. Distribution verticale des biomasses et des activités

Les valeurs moyennes des principaux paramètres sont représentées en Tableau 4.2. Afin de visualiser la répartition verticale moyenne aux trois sites étudiés, chaque paramètre a été exprimé en pourcentage de la moyenne sur chaque profil (cf. Fig. 4.1 à 4.4).

a. Phytoplancton

La biomasse phytoplanctonique, reflétée par les concentrations en pigments photosynthétiques varie peu entre 0 et 3 m (coefficient de variation moyen pour les trois baies CV=19%, Tab. 4.2). En baie de Biétri les concentrations en chlorophylle a sont en moyenne plus élevées ($P < 0.01$) dans la couche euphotique (Tab. 4.3).

Les estimations de la production photosynthétique au moyen de la fixation de ^{14}C et de la production d'oxygène sont en bon accord et montrent que la production primaire décroît très rapidement avec la profondeur (Fig. 4.5), en accord avec la forte turbidité des eaux aux trois sites étudiés (Tab. 4.1). Les profils de pénétration de la lumière photosynthétiquement active (PAR) montrent que l'énergie disponible à 3 m représente au maximum 11% de celle reçue en sub-surface (Abou-Abou 4, $Z_{1\%} = 6,16\text{m}$). L'essentiel de la production primaire est donc réalisé dans la couche 0-3 m, même dans les parties les plus profondes des baies étudiées.

b. Bactéries

L'abondance bactérienne totale varie peu sur les profils effectués (Fig. 4.1a, 4.2a, 4.3a). Le coefficient de variation est de 11% en moyenne sur les trois sites, donc proche de la reproductibilité de la mesure. L'abondance est significativement plus faible dans la couche aphotique en baie de Biétri ($P < 0.01$) (Tab. 4.3). L'abondance des communautés libres varie de manière similaire ($P < 0.001$). Par contre, l'abondance des communautés fixées ne montre pas de tendance significative avec la profondeur (Tab. 4.3), le coefficient de variation nettement plus élevé (50% en moyenne sur les trois sites) que pour les fraction totale et libres reflète essentiellement l'imprécision des mesures. Ainsi, le CV moyen est inférieur en Baie de Biétri (31%), où la fraction fixée est supérieure et donc la précision meilleure, qu'en baies d'Abou-Abou (55%) et Mopoyem (76%). Aussi, la proportion de la biomasse fixée ne montre d'évolution cohérente avec la profondeur dans aucun des trois sites étudiés (Fig. 4.4a à 4.4c).

La productivité bactérienne estimée par incorporation de thymidine varie également dans de faibles proportions sur les profils étudiés (CV=19% en moyenne). La seule tendance significative est retrouvée en baie de Biétri où l'incorporation est en moyenne 30% plus faible dans la couche aphotique (Tab. 4.3). L'incorporation par les communautés libres montre une évolution comparable à celle des communautés totales et l'incorporation par les communautés fixées ne montre aucune tendance significative. Comme pour la proportion de la biomasse fixée, la proportion de l'activité fixée ne montre pas d'évolution significative (Fig. 4.4d à 4.4f).

L'activité spécifique par cellule varie donc faiblement ne montrant pas d'écart significatifs entre couches euphotique et aphotique, même en baie de Biétri (cf Tab. 4.3).

Tableau 4.3 : Comparaison des valeurs moyennes des principaux paramètres dans les couches euphotiques et aphotiques en baie de Biétri. Toutes les valeurs sont exprimées en pourcentage de la moyenne sur le profil.

	--- Biomasse phytoplanctonique ---				---- Abondance bactérienne ----			
	Chl.a	Phéo	Pigm	%act	totale	libre	fixée	%fixé
Biétri couche euphotique								
Moyenne	113	107	112	95	107	107	105	99
Ecart-type	23	37	22	30	10	9	25	18
N	13	13	13	13	16	16	16	16
Biétri couche aphotique								
Moyenne	77	86	78	110	88	87	90	101
Ecart-type	20	22	19	21	13	9	33	27
N	7	7	7	7	9	9	9	9
Différence	0.004	ns	0.003	ns	0.004	0.0001	ns	ns
	---- Incorporation de thymidine ----				-- Activité spécifique --			
	totale	libre	fixée	%fixé	totale	libre	fixée	Respiration
Biétri couche euphotique								
Moyenne	111	111	109	98	103	103	101	121
Ecart-type	20	21	29	20	13	11	24	45
N	16	16	16	16	14	14	14	13
Biétri couche aphotique								
Moyenne	81	81	83	103	95	95	99	67
Ecart-type	22	25	24	16	15	20	25	41
N	9	9	9	9	8	8	8	8
Différence	0.007	0.009	0.039	ns	ns	ns	ns	0.003

Différence : signification des différences (test non paramétrique de Mann-Whitney), ns : différence non significative.

c. Nanoplancton hétérotrophe

Les dénombrements des ciliés et flagellés hétérotrophes n'ont été effectués qu'au cours des trois derniers profils (A5, B5, M5). L'abondance des flagellés hétérotrophes varie de 6 à 17 10^7 ind.l^{-1} à Abou-Abou, 15 à 22 10^7 l^{-1} à Biétri et 12 à 20 10^7 l^{-1} à Mopoyem. Ces abondances très élevées sont en accord avec les fortes abondances et activités bactériennes des milieux étudiés ici.

L'abondance des ciliés varie de 15 à 30 10^3 l^{-1} à Abou-Abou, 8 (dans l'hypolimnion anoxique) à 180 10^3 l^{-1} à Biétri et 20 à 30 10^3 l^{-1} à Mopoyem. De telles abondances ne sont reportées que dans les milieux eutrophes (revue par Carlough & Meyer, 1989). Le plus souvent de type oligotriche et dominés par le genre *Strombidium*, les peuplements de ciliés apparaissent peu diversifiés, sauf en baie de Biétri.

Les densités de flagellés et ciliés ne montrent une nette stratification verticale qu'au delà de 3 m de profondeur et peuvent être considérées comme homogènes dans la couche 0-3 m (Tab. 4.4).

Si l'on admet que pratiquement toute la production bactérienne est consommée par les prédateurs eucaryotes (80% en moyenne cf. chap. cycles), il est possible de calculer les taux

d'ingestion et de filtration qu'entraînerait le contrôle de la productivité bactérienne par les flagellés hétérotrophes (Tab. 4.4). Les ciliés du genre *Strombidium* sont en effet plutôt considérés comme des consommateurs de flagellés (Bernard & Rassoulzadegan, 1990).

Cette supposition impliquerait un taux d'ingestion variant peu autour d'une valeur moyenne d'environ 3 bactéries par flagellé par heure. Divisé par l'abondance bactérienne, ce taux d'ingestion est équivalent à un taux de filtration d'environ 0,6 μl flagellé⁻¹h⁻¹.

Ces taux d'ingestion et de filtration se situent dans les valeurs basses reportées pour des assemblages naturels de flagellés hétérotrophes (Tab. 4.5). Les valeurs calculées ici montrent donc que l'abondance des flagellés hétérotrophes est largement suffisante pour que ceux-ci contrôlent la totalité de la production bactérienne. Ce calcul confirme donc que le contrôle de la production bactérienne par la prédation, notamment par les flagellés hétérotrophes, est l'hypothèse la plus plausible dans le milieu étudié.

Tableau 4.4 : Abondance des prédateurs potentiels et taux d'ingestion et de filtration par flagellé hétérotrophe.

m	Eh mV	ABONDANCE BACTERIENNE		PRODUCTION BACTERIENNE ^a		ABONDANCE Ciliés Flag.		TAUX D'INGESTION ^b		TAUX DE FILTRATION ^b	
		totale 10^9 l^{-1}	libre	totale $10^9 \text{ l}^{-1} \text{ h}^{-1}$	libre	10^3 l^{-1}	10^7 l^{-1}	totale cell $\text{fig}^{-1} \text{ h}^{-1}$	libre	totale $\text{nl} \text{ fig}^{-1} \text{ h}^{-1}$	libre
ABOU-ABOU 26 février 1991											
0	233	4.1	4.1	0.27	0.24	27	7.5	3.6	3.2	0.9	0.8
1	224	4.1	3.6	0.29	0.24	27	6.3	4.6	3.8	1.1	1.1
2	216	4.1	3.6	0.20	0.16	22	17.0	1.2	0.9	0.3	0.3
3	208	3.4	2.9	0.31	0.26	22	9.7	3.2	2.7	0.9	0.9
4	201	3.2	3.6	0.31	0.27	14	13.0	2.4	2.1	0.7	0.6
5	193	3.7	3.5	0.28	0.20	14	6.2	4.6	3.2	1.2	0.7
BIETRI 20 février 1991											
0	236	13.8	11.3	1.27	0.96	171	16.0	8.0	6.0	0.6	0.5
1	230	11.5	9.4	1.81	1.11	168					
2	225	13.0	9.2	1.58	1.14	182					
3	224	10.4	9.0	1.75	1.37	95					
5	224	9.7	7.2	1.24	0.97	109	22.0	5.6	4.4	0.6	0.6
7	224	8.0	6.5	0.99	0.84	66					
9-102		8.3	5.6	0.25	0.21	22	15.0	1.6	1.4	0.2	0.3
10-135		6.0	5.0	0.03	0.02	8					
MOPOYEM 24 mars 1991											
0	217	4.2	4.2	0.29	0.22	25	13.0	2.2	1.7	0.5	0.4
1	215	5.7	4.9	0.34	0.26	21	20.0	1.7	1.3	0.3	0.3
2	213	4.2	3.6	0.49	0.41	30	16.0	3.1	2.6	0.7	0.7
3	212	4.4	3.8	0.49	0.39	22	12.0	4.1	3.2	0.9	0.9
4	208	4.0	3.8	0.49	0.42		14.0	3.5	3.0	0.9	0.8
Moyenne								3.5	2.8	0.7	0.6
Ecart-type								1.8	1.4	0.3	0.3
N								14	14	14	14
Erreur-standard								0.5	0.4	0.1	0.1

a : Estimée à partir de l'incorporation de thymidine

b : En supposant que toute la production bactérienne est consommée par les flagellés hétérotrophes.

Tableau 4.5 : Abondance, taux d'ingestion et taux de filtration de communautés naturelles de flagellés hétérotrophes dans divers milieux.

ABONDANCE		INGESTION bact/flag/h	— FILTRATION —		METH.	SITE (Température) REFERENCE
bactéries 10 ⁹ l-1	flagellés 10 ⁶ l-1		Volume nl/flag/h	Vol.Spécifique 10 ⁴ /flag/h		
1.5-9.9	0.5-4.4	1.8-25	0.4-2.3	2.2-14	FPP	Baie de Chesapeake, USA (5-24°C) Mc Manus & Fuhrman, 1988
6-15	1-11	2.3-17			FLB	Lac Vechten, Pays-Bas Bloem et al., 1989
2.3-8.7	2-4	2-53	0.2-15		FM	Lac Oglethorpe, USA (8-30°C) Sanders et al., 1989
9-23			0.2-5		FLB	Tidal Creek, Georgie, USA (28°C) Gonzales et al., 1990
			0.4-7	3-33	FLB	Mastfjorden, Norvège Nygaard et al., 1988
		2.3-3.9			FM	York River, USA Sieracki et al., 1987
			2-10		FLB	Sherr et al., 1986
2-10	0.4-1.3		0.6-5.4		MiniCap	Lac Constance, RFA (4°C) Pace et al., 1990
0.5-6	0.5-8	10-100	0.2-123		Dil.	Lac Upton, USA (4-21°C) Weisse, 1990.
0,5-0,6	0,8-0,9	10-30	6-24		Filtr.	Atlantique NE (18-22°C) Weisse & Scheffel-Moser, 1991
0.95	2	13	14		MiniCap	Baie de Villefranche Hagström et al., 1988
0.5-0.9	0.6-1.2	21-58	36-94		Antibio.	Mer Rouge (23-26°C) Weisse, 1989

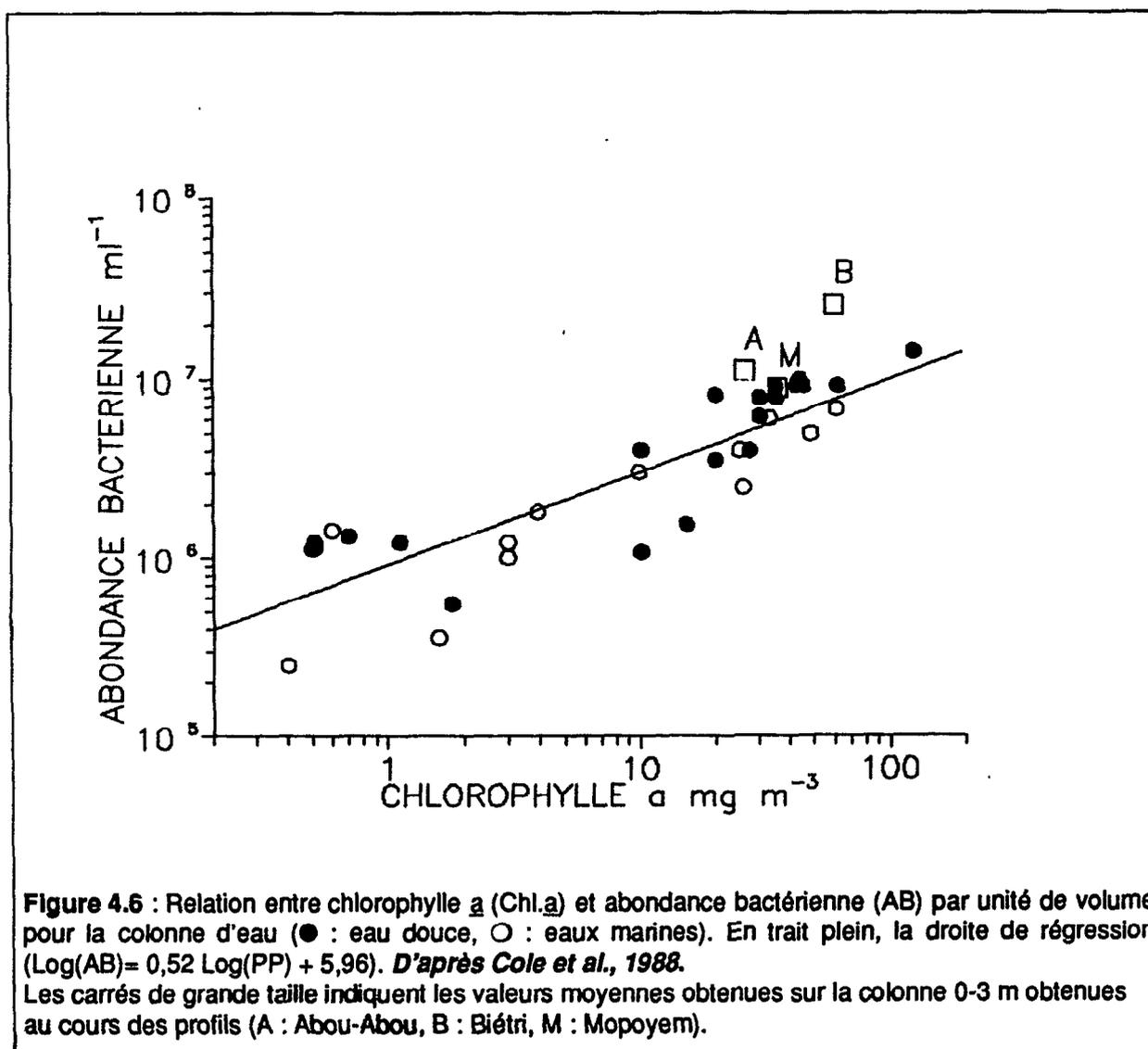
FLB : Fluorescently Labelled Bacteria ; FM : Fluorescent microspheres ; FPP : Fluorescent paint particles ; MiniCap : Minicell recapture technique ; Dil. : Méthode par dilution ; Antibio : Antibiotiques ; Filtr. : Filtration différentielle.

Les sites étudiés montrent donc une faible hétérogénéité verticale de 0 à 3 m, sauf en baie de Biétri où la répartition verticale est plus structurée. Encore cette stratification est-elle relativement modérée, puisque les valeurs relevées dans la couche euphotique ne sont supérieures que de 30, 30 et 18% à celles relevées dans la couche aphotique respectivement pour la chlorophylle *a*, la production bactérienne et l'abondance bactérienne totale. La diffusion des composés réduits, notamment d'H₂S, présents dans l'hypolimnion fortement anoxique (10 mois sur 12, cf chap.5 déstratification) pourrait expliquer la répartition moins uniforme qu'aux autres sites. L'homogénéité verticale des paramètres déterminés dans la couche euphotique en divers sites de la lagune Ebrié a déjà été montrée pour la chlorophylle *a*, le seston total et le phosphore particulaire où ces paramètres montrent une variabilité verticale du même ordre que la reproductibilité des mesures (Lemasson *et al.*, 1981). Les résultats présentés ici montrent que cette homogénéité verticale est également observée pour les paramètres bactériens.

2. Productions et biomasses intégrées par m²

a. Comparaison des biomasses bactérienne et phytoplanctonique

La comparaison des valeurs moyennes d'abondance bactérienne et de chlorophylle *a* obtenues au cours de cette étude avec celles reportées dans la revue de Cole *et al.* (1988) montre que celles-ci se situent parmi les valeurs les plus élevées. Toutefois, elles ne semblent pas s'écarter nettement de la tendance générale même en baie de Biétri (Fig. 4.6) où les apports allochtones sont vraisemblablement les plus élevés en raison de la pollution urbaine et industrielle (Arfi & Guiral, 1991).



En utilisant les facteurs de conversion de 30,7 $\mu\text{gC}/\mu\text{gChl.}_a$ totale pour le phytoplancton et 2 $10^{-13}\text{gC } \mu\text{m}^{-3}$ pour les bactéries (cf. méthodes), on peut estimer les contributions bactérienne totale et phytoplanctonique au carbone particulaire total (Cp) intégré par m^2 (Tab. 4.6).

Tableau 4.6 : Biomasse bactérienne, biomasse phytoplanctonique, carbone particulaire total (Cp) et détritique (CPd) intégrés sur la colonne d'eau 0-3 m.

	Cp gC m^{-2}	pigments mg m^{-2}	Abondance bactérienne totale 10^{12} cellules m^{-2}			libre	fixée	biomasse phyto. gC m^{-2}	biomasse bact. gC m^{-2}	CPd gC m^{-2}
A2	3.90	118	34	33	1.4	3.6	0.7	-0.4		
A3	5.40	70	37	32	5.1	2.1	0.7	2.6		
A4	3.91	58	29	22	7.5	1.8	0.6	1.5		
A5	nd	nd	12	11	1.3	nd	0.2	nd		
B2	11.7	191	83	57	26	5.8	1.7	4.2		
B3	16.7	123	67	49	18	3.8	1.3	11.6		
B4	12.1	199	79	66	13	6.1	1.6	4.4		
B5	nd	nd	37	29	8	nd	0.7	nd		
M1	5.69	97	nd	nd	nd	3.0	nd	nd		
M2	6.60	176	29	28	1.9	5.4	0.6	0.6		
M3	6.53	95	29	24	4.8	2.9	0.6	3.0		
M4	2.49	35	22	19	3.0	1.1	0.4	1.0		
M5	nd	nd	14	12	1.8	nd	0.3	nd		

Toutes saisons confondues, la biomasse bactérienne représente en moyenne 15, 12 et 11% du Cp total de la colonne d'eau 0-3 m en baies d'Abou-Abou, Biétri et Mopoyem respectivement. Le phytoplancton représente 59, 41 et 56% du Cp total et le CP "détritique" (Cp - Cp phyto.- Cp bact.) 26, 47 et 32% en baies d'Abou-Abou, Biétri et Mopoyem respectivement. Tous sites et toutes saisons confondues la biomasse bactérienne représente donc en moyenne environ 30% de la biomasse phytoplanctonique. Si cette proportion se situe dans la gamme des valeurs les plus couramment reportées dans les écosystèmes aquatiques en général, elle est faible pour un milieu estuarien. Des valeurs de biomasse bactérienne égales, voire même supérieures à la biomasse phytoplanctonique, ont été reportées en milieu estuarien (Coffin & Sharp, 1987 dans l'estuaire du Delaware ; Wright *et al.* 1987 dans l'estuaire de la Parker (USA) ; Painchaud & Terriault, 1989 dans l'estuaire du St. Laurent).

b. Comparaison des productions bactérienne et phytoplanctonique

Il existe une relation linéaire significative systématique entre productions cumulées et énergies incidentes cumulées dans la gamme des rayonnements reçus en surface (Tab. 3.4, chap.3 cycles). La production primaire par m² obtenue au cours des profils (2 à 3 h d'incubation) a donc été extrapolée à la journée à l'aide de la lumière incidente reçue au cours de la journée précédente (déterminée au cours de l'étude des cycles nycthémeraux, chap. 3). Les valeurs de production nette ainsi calculées sont de l'ordre de 0.7-1.4 gC m⁻²j⁻¹ à Abou-Abou, 3-4 gC m⁻²j⁻¹ à Biétri et 1-2 gC m⁻²j⁻¹ à Mopoyem (Tab. 4.7), comparables à celles reportées au cours d'études antérieures sur les mêmes sites (Pagès *et al.*, 1981, Carmouze & Caumette, 1985, Dufour, 1984).

L'étude des variations journalières a montré que la production bactérienne déterminée à un moment quelconque de la journée se situe dans un intervalle de 30% autour de la moyenne journalière. La production bactérienne horaire a été extrapolée à la journée en la multipliant par 24. La production bactérienne est de l'ordre de 0.4-0.8 gC m⁻²j⁻¹ à Abou-Abou, 1.5-2.5 gC m⁻²j⁻¹ à Biétri et 0.5-0.8 gC m⁻²j⁻¹ à Mopoyem (Tab. 4.8).

Sur la colonne d'eau 0-3 m la production bactérienne représente donc 39 à 123% de la production primaire nette (58% en moyenne sur les sept profils où celles-ci ont été déterminées simultanément). Le nombre restreint de profils limite la portée des comparaisons. Cette proportion apparaît en effet assez variable d'un profil à l'autre sur les mêmes sites. Les écarts importants sont essentiellement dus aux variations importantes de la production primaire pour un même site sur les profils où celle-ci a pu être déterminée. La production de biomasse bactérienne semble beaucoup moins variable comme l'attestent les coefficients de variation de l'ordre de 20-30% pour un même site (Tab. 4.8). La production de biomasse bactérienne représente toutefois un flux de carbone non négligeable dans la chaîne trophique. En utilisant une efficacité de croissance bactérienne de 55% (chap.2 méthodes), l'activité hétérotrophe bactérienne calculée représente en moyenne 106% de la production primaire nette, tous sites confondus. Cette proportion élevée écarte sensiblement les proportions obtenues au cours de cette étude de celles revues par Cole *et al.* (1988) (Fig. 4.7).

Tableau 4.7 : Production primaire brute intégrée sur la colonne d'eau 0-3 m.

	PRODUCTION PRIMAIRE pendant l'incubation gC m ⁻²	ENERGIE INCIDENTE pendant l'incubation Wh m ⁻²	ENERGIE INCIDENTE ^a par jour Wh m ⁻²	PRODUCTION PRIMAIRE par jour gC m ⁻² j ⁻¹
A2	0.254	1400	6116	1.11
A3	0.707	1670	5466	2.31
B2	1.967	2789	6961	4.91
B3	2.056	1764	5881	6.86
M1	1.737	3194	6789	3.69
M2	0.615	2155	7153	2.04
M3	0.947	1816	5019	2.62

^a : Le jour précédent.

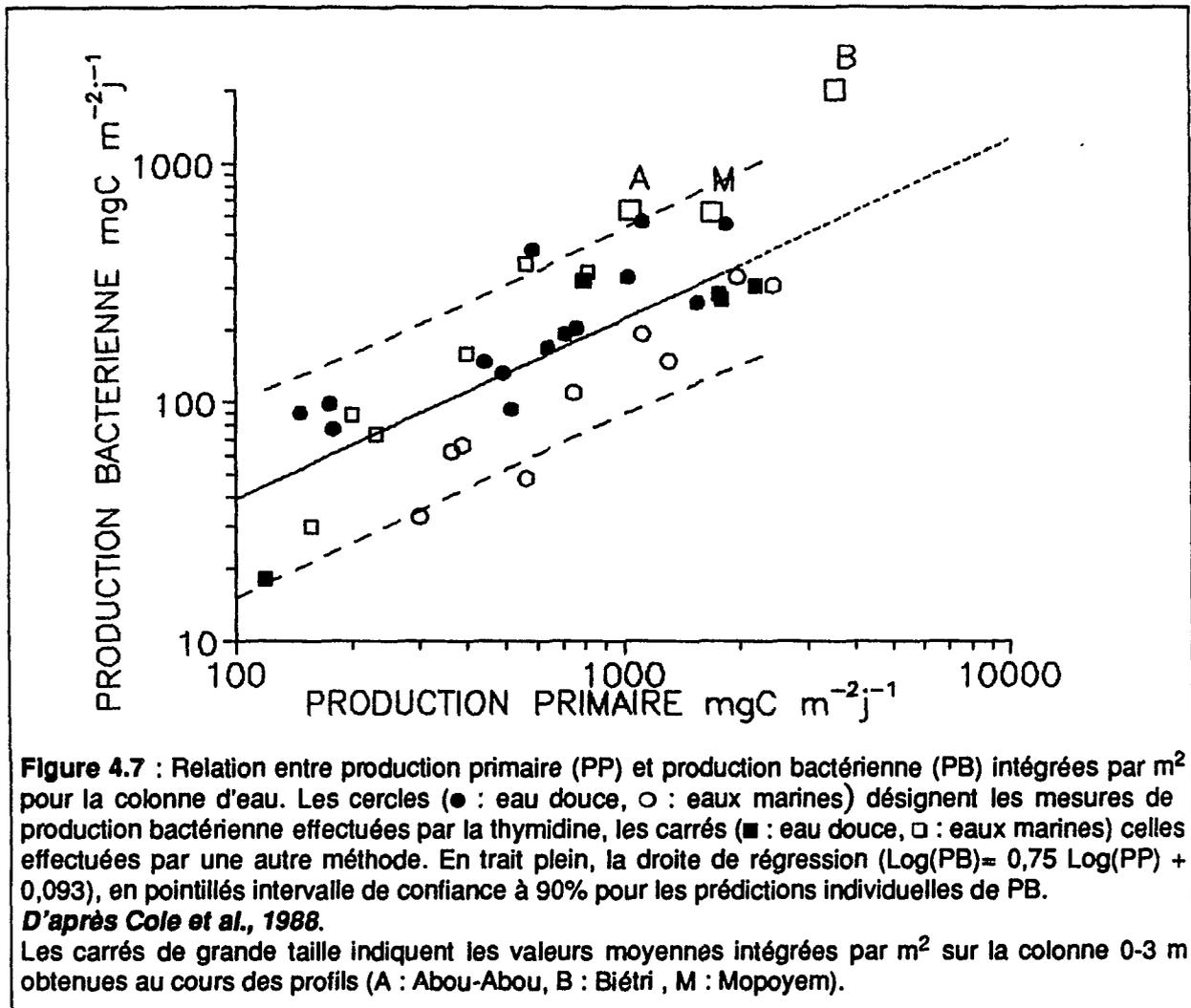
Tableau 4.8 : Productions primaire et bactérienne intégrées sur la colonne d'eau 0-3 m

	Production bactérienne				Production brute gC m ⁻² j ⁻¹	primaire nette ^a gC m ⁻² j ⁻¹	Prod. bactérienne/ Prod. primaire %
	totale	libre gC m ⁻² j ⁻¹	fixée	% fixé			
A2	0.83	0.79	0.04	4	1.11	0.68	123
A3	0.56	0.46	0.10	18	2.31	1.41	40
A4	0.74	0.57	0.17	23			
A5	0.39	0.33	0.06	17			
B2	2.34	1.59	0.75	32	4.91	2.99	78
B3	1.63	1.25	0.38	23	6.86	4.18	39
B4	1.50	1.26	0.24	16			
B5	2.48	1.73	0.75	30			
M1	0.54	0.42	0.12	22	3.69	2.25	24
M2	0.80	0.74	0.06	8	2.04	1.24	64
M3	0.66	0.52	0.14	21	2.62	1.60	41
M4	0.49	0.42	0.07	15			
M5	0.62	0.49	0.12	20			
Coefficients de variation pour un même site							
A	31	37	62	51			
B	25	17	49	29			
M	19	25	32	34			

^a : En retirant de la production brute une respiration phytoplanctonique représentant en moyenne 40% de la production brute intégrée (calculée avec 1.13 µg O₂ consommé par µg Chl._a, cf. chap.2 méthodes) et un QR de 1.

Rappelons toutefois que dans la chaîne trophique, chaque étape de prédation conduit à la libération de carbone organique particulaire et dissous. Les bactéries hétérotrophes consomment une partie du carbone organique libéré à chacune de ces étapes. Le carbone est ainsi recyclé de nombreuses fois dans l'écosystème. La demande hétérotrophe bactérienne peut donc, en théorie, excéder les entrées totales de carbone dans les écosystèmes à forte capacité de rétention (à faible proportion de pertes d'origine non-respiratoire, Strayer, 1988 ; Scavia, 1988).

De telles activités hétérotrophes comparées aux entrées de carbone dans l'écosystème par le biais de l'activité photosynthétique ne permettent donc pas de conclure immédiatement que des apports allochtones de matière organique sont nécessaires pour expliquer l'activité hétérotrophe bactérienne. cet aspect est discuté en chap.6 (conclusion générale).



c. Consommations d'oxygène bactérienne et phytoplanctonique

Les contributions respiratoires respectives du phytoplancton et des bactéries peuvent être approchées en utilisant les facteurs 1,13 µgO₂ consommé par µgChl._a et 60 µgO₂ consommé par nmole de thymidine incorporée dans le TCA précipité (chap.2 méthodes). Avec ces coefficients on peut estimer que la consommation d'oxygène par les bactéries représente en moyenne 71% de celle du phytoplancton dans la couche 0-3 m, tous sites confondus. Les bactéries représentent donc une composante importante de l'activité respiratoire microplanctonique totale aux trois sites étudiés. Ce résultat est confirmé par l'interprétation des mesures de l'activité de transferts d'électrons (ETS) au chapitre suivant.

3. Evolution des effectifs et de l'activité bactérienne dans les couches profondes

Dans les baies d'Abou-Abou et de Biétri la colonne d'eau peut atteindre des profondeurs importantes comparées à la profondeur moyenne de la lagune. Des profils ont été effectués dans ces sites, afin de préciser l'évolution des paramètres bactériens avec la profondeur et d'estimer la contribution des communautés bactériennes des zones profondes à la biomasse et à l'activité bactérienne totale dans la colonne d'eau.

La baie d'Abou-Abou présente une dépression profonde de 22 m au sein de laquelle les eaux marines sont piégées et montrent une anoxie marquée pendant la période de stratification (saisons des pluies et des crues, Caumette, 1985). La baie de Biétri présente également une dépression profonde de 10 à 14 m au sein de laquelle une stratification de longue durée (9 mois) délimite un hypolimnion fortement réduit (voir chap.5 déstratification).

Dans ces sites plus profonds, dès l'arrivée en conditions anoxiques, la productivité bactérienne décroît plus rapidement que l'abondance (Fig. 4.8). En conséquence les activités spécifiques diminuent également avec la profondeur. Les activités spécifiques respectives des communautés bactériennes libres et fixées sur particules montrent une évolution différente. L'activité spécifique des communautés fixées diminue en effet moins rapidement avec la profondeur que celle des communautés libres (Fig. 4.9). Dans ces zones profondes, peu renouvelées, l'appauvrissement du milieu environnant et la diminution des concentrations en oxygène sont probablement responsables de la diminution des activités spécifiques. Les particules, en fournissant un micro-environnement plus riche en composés nutritifs et peut-être une quantité d'oxygène résiduel supérieure (la vitesse de sédimentation est élevée, de l'ordre de $0,5 \text{ m j}^{-1}$, cf chap.3 cycles) semblent favoriser la croissance bactérienne. Contrairement à ce qui a pu être constaté dans les zones superficielles des sites étudiés (cf. chap.3) la fixation semble donc présenter un avantage pour les communautés bactériennes dans ces zones profondes.

Pour l'ensemble des trois profils considérés, la biomasse et la production bactériennes sur la colonne d'eau 0-3 m représentent respectivement 38 à 46% et 50 à 64% de celles calculées pour la colonne d'eau complète (Tab. 4.9). Il est par contre peu probable que la production primaire phytoplanctonique soit sous estimée de manière significative dans ces zones car l'énergie lumineuse disponible ne représente pas plus de 11% de l'énergie disponible en sub-surface dans le meilleur des cas (Abou-Abou, cf Tab. 4.1). Les valeurs des rapports entre production bactérienne de biomasse et production primaire déterminés dans la couche 0-3 m peuvent donc être considérés comme une sous-estimation du vrai rapport.

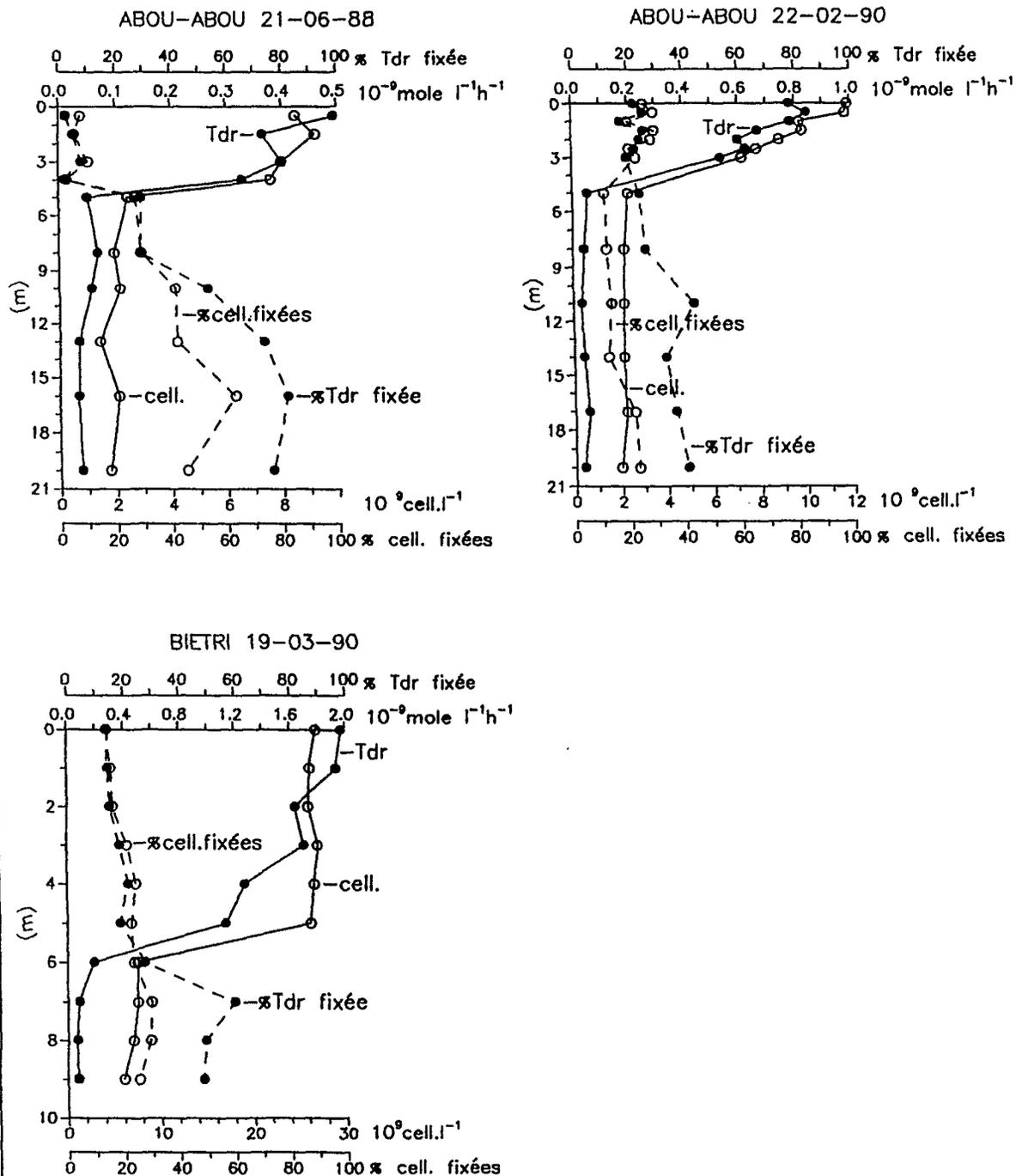


Figure 4.8 : Evolution verticale de la biomasse et de l'activité d'incorporation de thymidine par les communautés bactériennes libres et fixées dans les sites profonds des baies d'Abou-Abou et de Biétri.

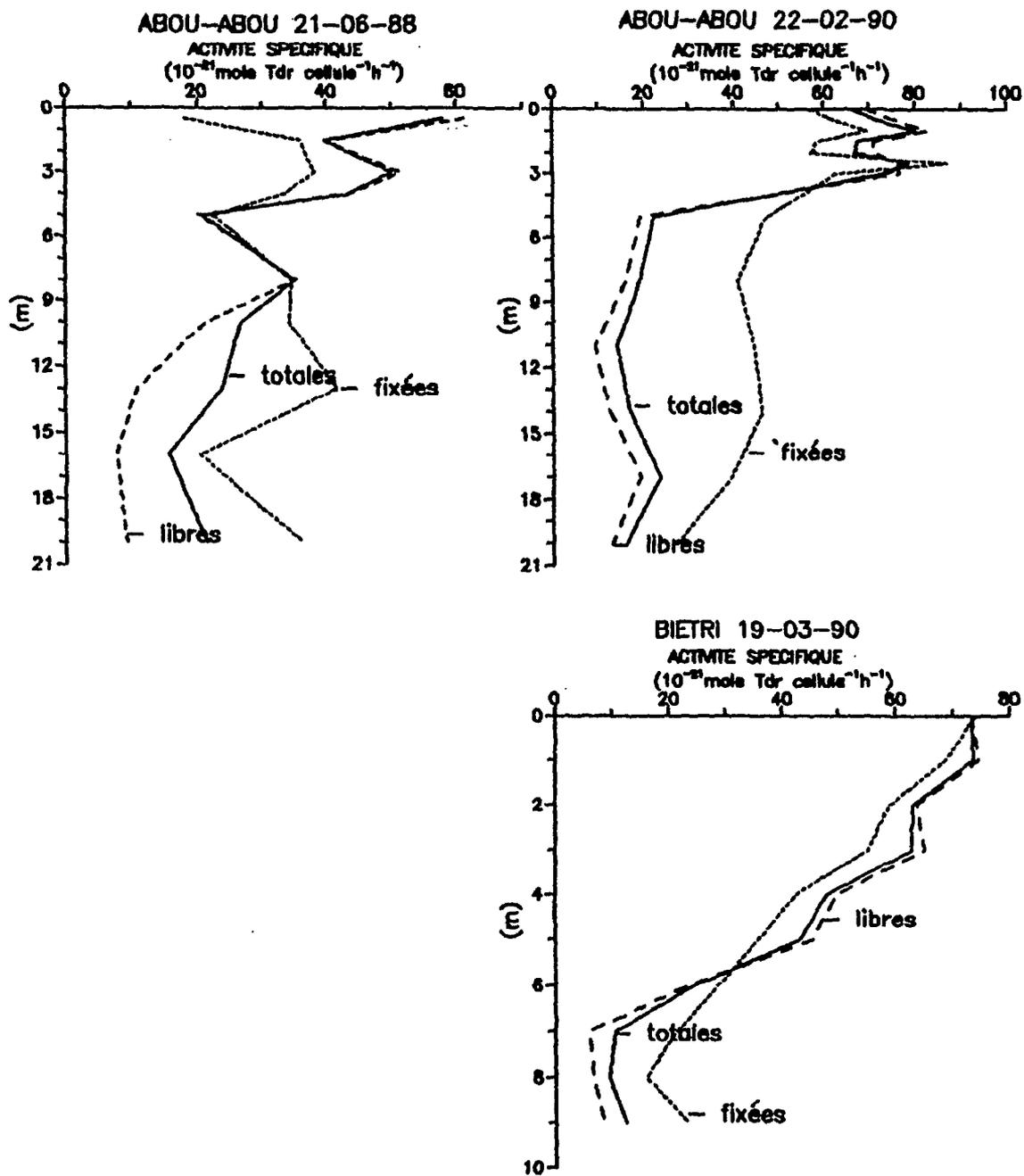


Figure 4.9 : Evolution verticale de l'activité spécifique d'incorporation de thymidine par les communautés bactériennes libres et fixées à Abou-Abou et Biétri.

Tableau 9 : Biomasse et production bactérienne et biomasse phytoplanctonique intégrées sur la couche 0-3 m et sur l'ensemble de la colonne d'eau aux sites profonds des baies d'Abou-Abou et de Biétri.

	-- Production bactérienne --				-- Biomasse bactérienne --				Biom. phyto gC m ⁻²	B.Bact/ B.phyto %
	totale ----- gC m ⁻² j ⁻¹ -----	libre	fixée	fixée % total	totale ----- gC m ⁻² -----	libre	fixée	fixée % total		
A0 0-3 m	0.45	0.42	0.02	5	0.52	0.48	0.04	8	1.62	32
A0 3 m-fond	0.45	0.30	0.15	33	0.87	0.59	0.28	33	1.36	64
A0 total	0.90	0.73	0.17	19	1.39	1.07	0.32	23	2.98	47
A4 0-3 m	0.74	0.57	0.17	23	0.58	0.43	0.15	26	1.79	32
A4 3 m-fond	0.43	0.31	0.11	27	0.85	0.71	0.14	16	1.92	44
A4 total	1.17	0.89	0.28	24	1.43	1.14	0.29	20	3.71	39
B4 0-3 m	1.50	1.26	0.24	16	1.90	1.58	0.31	17	6.11	31
B4 3 m-fond	1.30	1.01	0.29	22	2.26	1.71	0.55	24	3.57	63
B4 total	2.80	2.27	0.53	19	4.15	3.29	0.86	21	9.68	43

	0-3 m en % du total								
	Production bactérienne			Biomasse bactérienne			Biomasse phyto		
	totale	libre	fixée	totale	libre	fixée			
A0	50	58	13	38	45	12	54		
A4	64	65	60	41	38	52	48		
B4	54	56	45	46	48	36	63		

IV. CONCLUSION

Dans la couche 0-3 m des sites étudiés, la distribution verticale des paramètres bactériens peut être considérée comme homogène, comme celle de la biomasse phytoplanctonique et du matériel particulaire en général. Cette répartition uniforme, malgré une pénétration lumineuse très réduite en raison de l'abondance du matériel particulaire, confirme l'homogénéisation régulière de la colonne d'eau, notamment sous l'influence des vents. Cette répartition uniforme simplifierait considérablement une étude ultérieure à vocation plus exhaustive où les valeurs de surface suffiraient à caractériser la colonne 0-3 m des sites étudiés.

Par unité de surface, et en considérant uniquement la couche 0-3 m, les bactéries montrent une biomasse représentant en moyenne sur les trois sites 27% ($\sigma=9\%$) de la biomasse phytoplanctonique, une valeur modeste comparée à d'autres écosystèmes estuariens (Coffin & Sharp, 1987 ; Wright *et al.* 1987 ; Painchaud & Terriault, 1989). Par contre, la production de biomasse représente en moyenne 58% ($\sigma=34\%$) de la production primaire. La différence entre ces deux proportions suggère que la biomasse bactérienne est étroitement contrôlée par ses exportations ("Top down"). La comparaison de la production bactérienne avec les effectifs du nanoplancton hétérotrophe montre que ce contrôle peut être exercé par les seuls flagellés hétérotrophes.

Dans les sites profonds des zones estuariennes, l'extension vers le bas de la couche aphotique ne peut donc qu'accentuer le déséquilibre observé entre production bactérienne et production primaire. Toutefois, l'influence de ces zones profondes, en général anoxiques, est réduite en termes de productivité bactérienne. Ceci est d'autant plus vrai que les deux sites profonds étudiés correspondent aux profondeurs maximales des deux baies estuariennes. Les profondeurs moyennes des baies d'Abou-Abou et Biétri sont bien inférieures (Tastet & Guiral, 1991), ce qui réduit d'autant l'importance des zones profondes. Enfin, rappelons que si l'on peut exprimer des réserves sur l'adéquation de l'incorporation de thymidine en milieu anoxique (cf chap.2), celle-ci fournissant probablement une sous-estimation de la production bactérienne, l'anaérobiose est un mode de vie coûteux et la production de biomasse des organismes anérobies (en particulier des bactéries sulfato-réductrices dominant ces communautés en milieu estuarien, Caumette, 1986) est généralement négligeable.

Exprimées par unité de surface, la production de biomasse bactérienne et *a fortiori* l'activité hétérotrophe bactérienne présentent donc une importance considérable vis-à-vis de la production primaire par unité de surface aux trois sites étudiés. De tels rapports production bactérienne/production primaire ne sont pas couramment reportés dans la littérature et montrent que les bactéries hétérotrophes participent de manière essentielle aux flux de matière et d'énergie dans l'écosystème lagunaire. Toutefois, l'appréhension de l'importance relative des productions bactériennes et phytoplanctoniques dépend dans une large mesure de la "fenêtre d'observation" (Ducklow, 1984). La biomasse et l'activité bactérienne ont été étudiées sur une échelle de temps plus longue en baie de Biétri. Cette étude est décrite dans le chapitre suivant.

Chapitre 5 : ETUDE DE LA DESTRATIFICATION EN BAIE DE BIETRI

I. INTRODUCTION

CIRCONSTANCES ET CONSEQUENCES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA DESTRATIFICATION

- 1. La baie de Biétri - Evolution annuelle - Zonation horizontale et verticale**
- 2. Déstratification annuelle**

II. ETUDE DES CONSEQUENCES MICROBIOLOGIQUE DE LA DESTRATIFICATION

1. Matériel et méthodes

- a. Echantillonnage
- b. Paramètres physico-chimiques
- c. Paramètres biologiques

2. Résultats et discussion

- a. Période stratifiée
Epilimnion
Hypolimnion anoxique
- b. Colonne déstratifiée
- c. Comparaison des profils
Biovolumes bactériens
Abondance bactérienne
Incorporation de thymidine
- d. Importance des bactéries dans le rétablissement de l'anoxie
- e. Interprétation des mesures d'ETS
Couches oxygénées
Activité ETS dans les couches anoxiques

3. Conclusion

I. INTRODUCTION

CIRCONSTANCES ET CONSEQUENCES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA DESTRAFIFICATION 1

1. La baie de Biétri - Evolution annuelle - Zonation horizontale et verticale

La baie de Biétri, baie semi-fermée et localisée en zone estuarienne, est soumise aux influences océaniques (via le canal de Vridi) et aux crues fluviales (du Comoé). Sa situation géographique, au sein de la zone industrielle de l'agglomération abidjanaise, lui fait subir d'importants rejets agro-industriels et domestiques (Pagès *et al.* 1980 ; Arfi *et al.* 1981) qui se traduisent par une forte eutrophisation des eaux (Maurer, 1978 ; Guiral 1984 ; Arfi & Guiral, 1991). D'une surface de $6,05 \cdot 10^6 \text{ m}^2$, pour un volume de $22,9 \cdot 10^6 \text{ m}^3$ elle présente une faible profondeur moyenne (4 m), malgré d'importantes excavations occasionnées par l'extraction de sédiments lors de l'aménagement du port d'Abidjan. Les zones relativement profondes (-5 à -13 m, maximum pour la baie) représentent respectivement 22% de la surface et 49% du volume total de la baie (Arfi & Guiral, *in press*).

Une étude de son cycle hydrologique annuel en 1979 et 1980 a permis de définir la double zonation, horizontale et verticale, qui la caractérise (Arfi *et al.* 1989).

La zonation horizontale, affectant principalement les variables biologiques, se reflète essentiellement dans l'eutrophie qui augmente d'ouest en est, avec le degré de confinement, et en relation avec l'éloignement de la communication avec l'océan. La partie orientale (station C, Fig. 5.1) est ainsi caractérisée par une biomasse algale importante ($\text{Chl.}_a > 50 \mu\text{g l}^{-1}$), sans saisonnalité apparente et aboutissant périodiquement à des crises dystrophiques ($\text{Chl.}_a > 100 \mu\text{g l}^{-1}$). A l'opposé, la partie occidentale (station A) montre une évolution saisonnière marquée, caractérisée par un maximum annuel de la chlorophylle en saison des pluies ($60\text{-}80 \mu\text{g l}^{-1}$ contre 2 à 10 le reste de l'année). La station B, site de cette étude, montre une situation intermédiaire, caractéristique de la zone centrale de la baie, avec des variations saisonnières atténuées et des valeurs intermédiaires de chlorophylle a ($20\text{-}30 \mu\text{g l}^{-1}$).

La zonation verticale, observée lorsque la bathymétrie le permet (au-dessus des dépressions), intéresse en premier lieu les variables physico-chimiques. Ces zones se caractérisent par une stratification verticale des eaux, en relation avec les cycles marqués de température et surtout de salinité des eaux de surface. En période d'étiage (début d'année), la salinité des eaux de surface est de 27 à 30‰ et diminue avec l'arrivée de la grande saison des pluies en avril-mai, relayée par la crue du Comoé jusqu'en novembre. La présence permanente d'eaux marines (salinité $> 30\text{‰}$) piégées aux fond des excavations isolées entraîne une stratification de densité 9 à 10 mois sur 12.

1 : Ce paragraphe résume 3 publications :

- ARFI, R., GUIRAL, D., TORRETON, J.-P. (1989). Cycle hydrologique annuel d'une baie eutrophe : la baie de Biétri (lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). *Rev. Hydrobiol. Trop.* 22 (4) : 263-273
- GUIRAL, D., ARFI, R., TORRETON, J.-P. (1989). Mécanismes et incidences écologiques de l'homogénéisation annuelle de densité dans un milieu eutrophe stratifié. *Hydrobiologia.* 183 : 195-210
- GUIRAL, D., ARFI, R., TORRETON, J.-P. (1990). Conséquences biogéochimiques de la déstratification d'une baie eutrophe : la baie de Biétri (lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). *Rev. Hydrobiol. Trop.* 23(1) : 11-25

L'accumulation de matériel organique autochtone (forte production primaire) et allochtone (rejets abondants) dans ces zones profondes aphotiques entraîne une forte consommation d'oxygène. Une stratification d'oxygène se superpose donc à la stratification de densité. Celle-ci délimite un épilimnion oxygéné et un hypolimnion anoxique riche en composés réduits. L'épilimnion est riche en phytoplancton et relativement pauvre en éléments nutritifs. Au sein de cette strate euphotique dépasse rarement 2 m. L'hypolimnion est fortement réduit ($Eh \sim -200mV$) et particulièrement riche en $N-NH_4$, $P-PO_4$ et H_2S (Fig. 5.3).

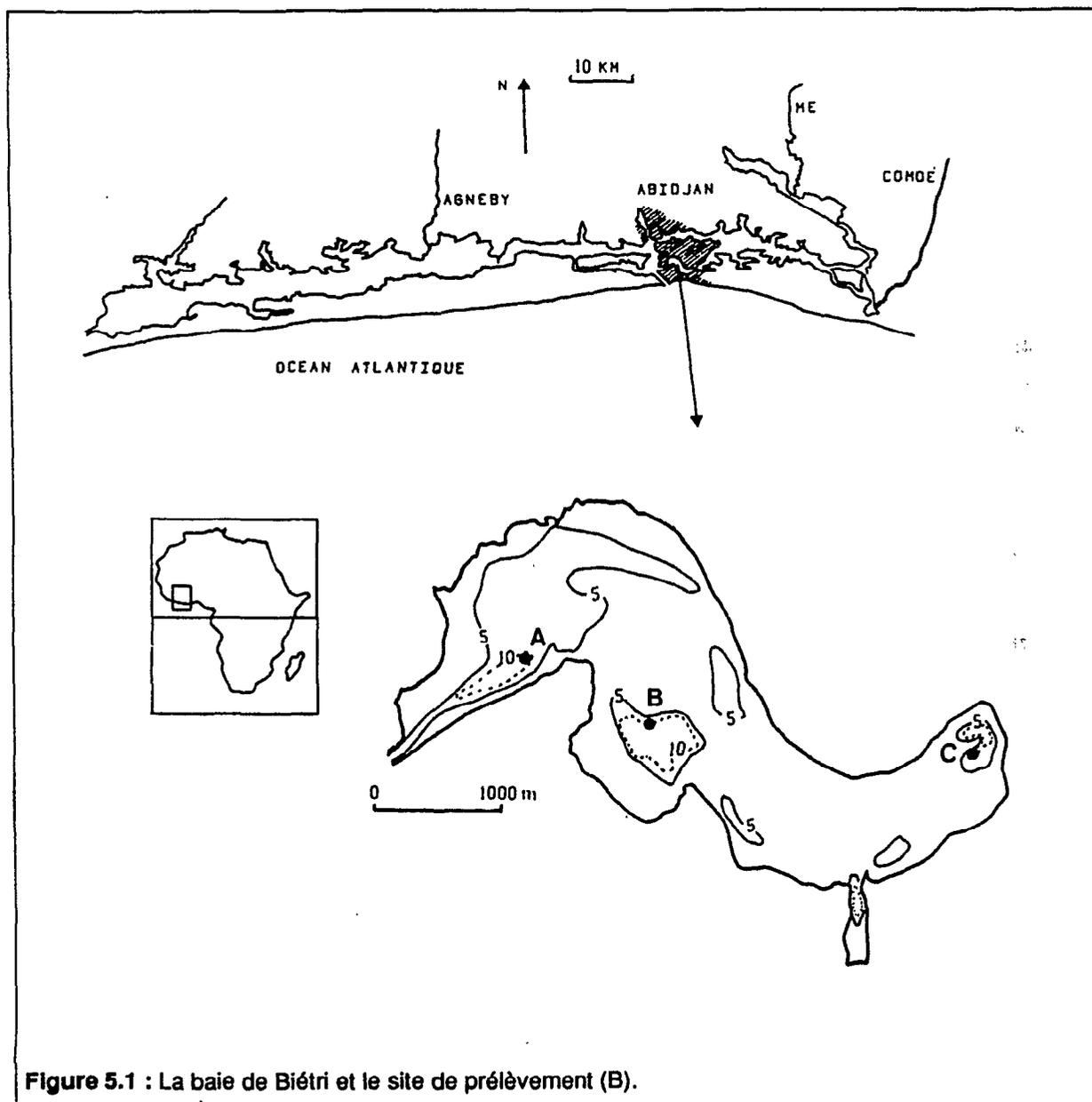


Figure 5.1 : La baie de Biétri et le site de prélèvement (B).

2. Déstratification annuelle

Les mécanismes de l'homogénéisation annuelle de densité ont été étudiés à l'aide de résultats provenant de deux campagnes d'échantillonnage (Guiral *et al.* 1989).

- Une campagne de mesures hebdomadaires en 1985-1986 a permis de préciser les conditions hydroclimatiques nécessaires (augmentation de la salinité en surface à la fin des crues, refroidissement des eaux lagunaires induit par l'upwelling côtier en janvier) et l'évolution générale des conditions physico-chimiques dans la colonne d'eau (Fig. 5.2 et 5.3).

- Une deuxième campagne, à plus haute fréquence d'échantillonnage, a permis de montrer que lorsque ces conditions hydroclimatiques sont réunies, la déstratification se réalise au cours d'une séquence de vive-eau, lors d'une basse mer par accélération des courants de jusant en surface (Guiral *et al.* 1989).

La déstratification se traduit par une homogénéisation des profils verticaux de concentrations en sels nutritifs et en oxygène, et entraîne la disparition de 90% de la charge en $N-NH_4$ et de 60% de celle en $P-PO_4$ (Fig. 5.4). La disparition de $N-NH_4$ n'est pas couplée à une augmentation, même transitoire, en $N-NO_2$ et $N-NO_3$ lors de la réoxygénation du milieu. Un phénomène comparable, observé en baie de Chesapeake (Webb et d'Elia, 1980), a été interprété comme résultant de la transformation du N et du P minéral dissous en N et P particulaires. En baie de Biétri, l'absence d'une augmentation correspondante des concentrations particulaires réfute cette hypothèse. Un mécanisme plus vraisemblable serait la complexation du $P-PO_4$ et du $N-NH_4$ au sein de composés organo-minéraux (avec les acides humiques, Boatman & Murray, 1982) ou de chélates, consécutive à la réoxydation chimique des ions ferreux. Ce phénomène serait en accord avec la reconstitution des stocks de ces composés lors du rétablissement de l'anoxie, reconstitution trop rapide pour être d'origine biologique (Guiral *et al.* 1989).

La déstratification se traduit donc par des variations physiques et chimiques majeures du milieu. L'objectif de cette étude, réalisée au cours de la deuxième campagne, en janvier-février 1987 était d'étudier l'incidence de la déstratification sur les communautés bactériennes hétérotrophes.

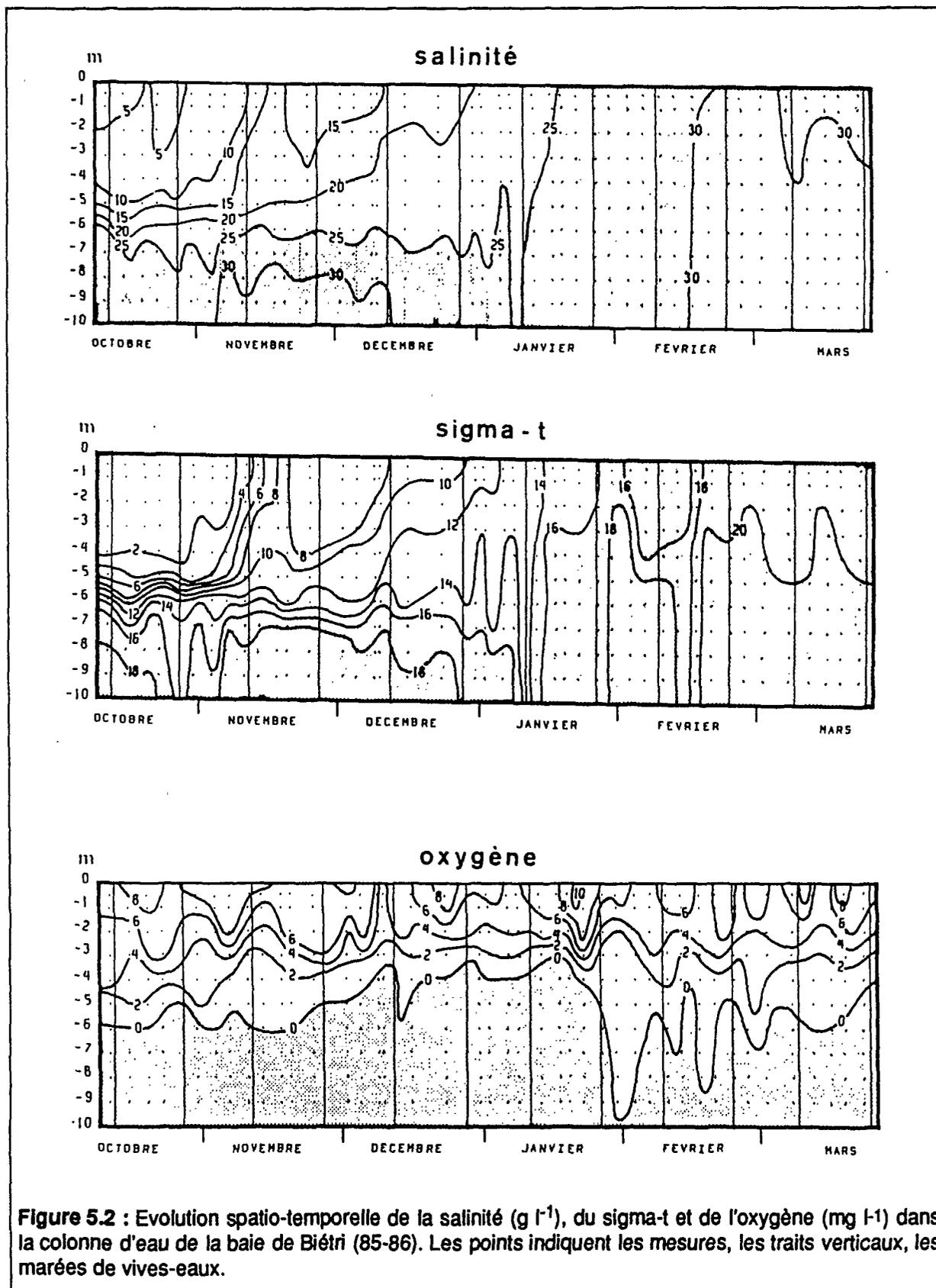


Figure 5.2 : Evolution spatio-temporelle de la salinité ($g\ l^{-1}$), du sigma-t et de l'oxygène ($mg\ l^{-1}$) dans la colonne d'eau de la baie de Biétri (85-86). Les points indiquent les mesures, les traits verticaux, les marées de vives-eaux.

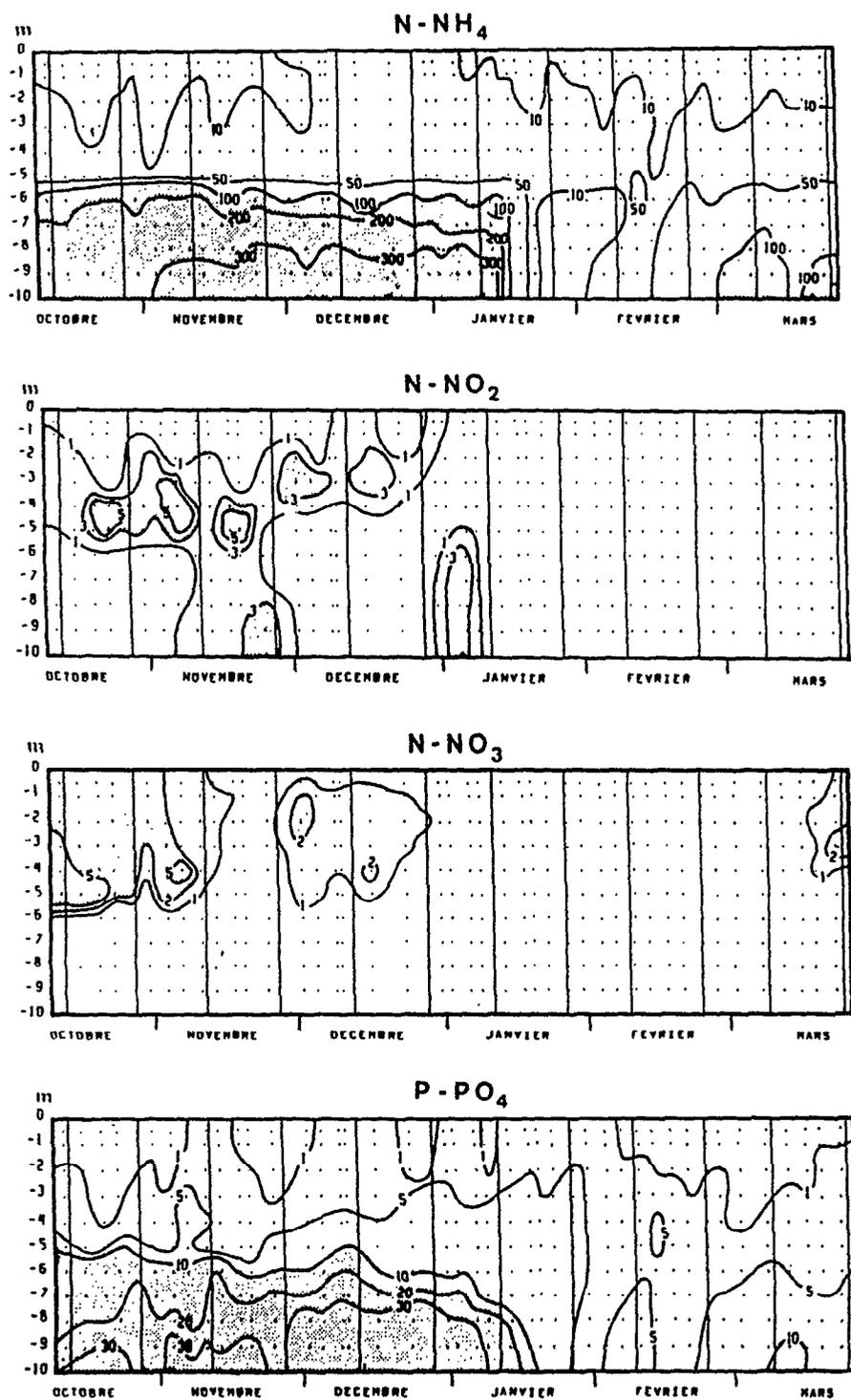
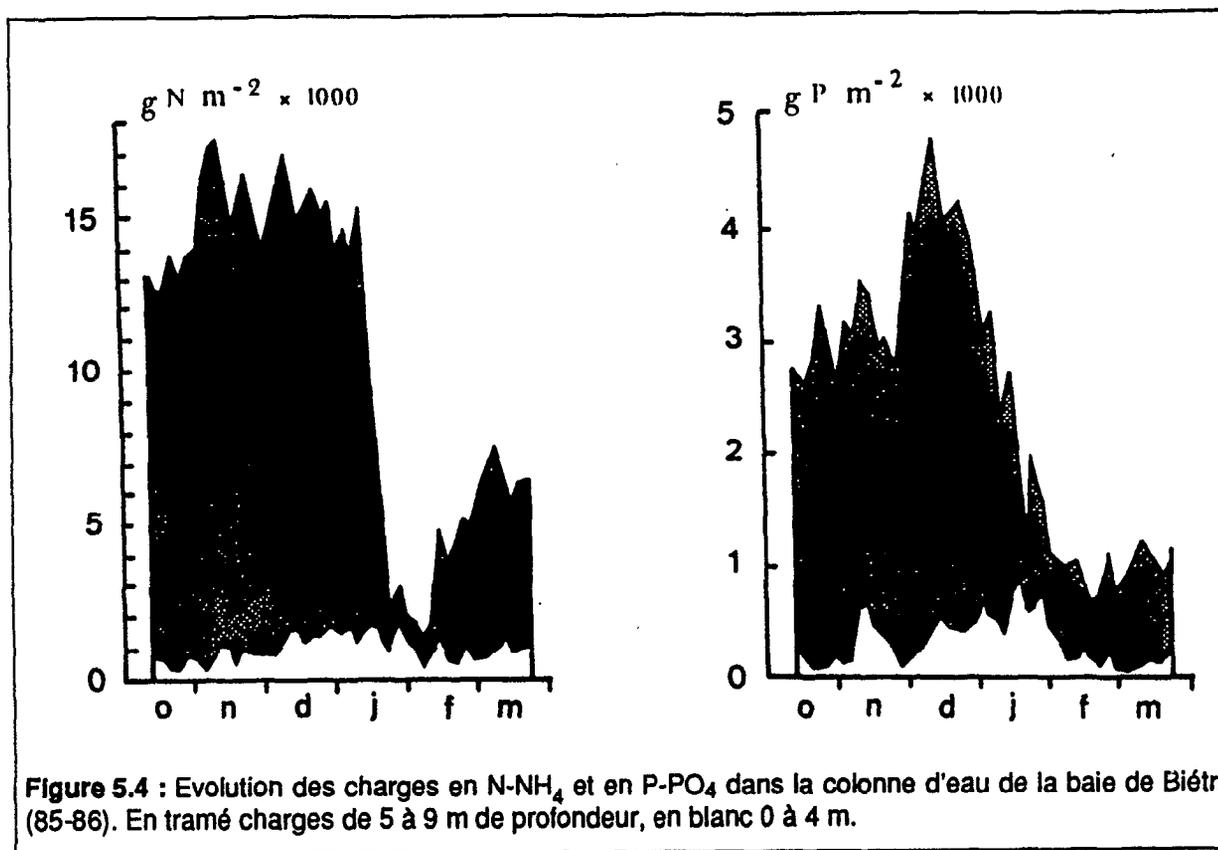


Figure 5.3 : Evolution spatio-temporelle des concentrations en N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃ et P-PO₄ ($\mu\text{mol l}^{-1}$) dans la colonne d'eau de la baie de Biétri (85-86). Les points indiquent les mesures, les traits verticaux, les marées de vives-eaux.



II. ETUDE DES CONSEQUENCES MICROBIOLOGIQUE DE LA DESTRAFICATION 2

1. Matériel et méthodes

a. Echantillonnage

Les échantillons ont été prélevés à l'aide d'une bouteille Niskin de 10 litres montée horizontalement à 0,50 m et tous les mètres entre -1 et -9 ou -10 m. Les paramètres physiques et chimiques ont été suivis tous les jours entre le 3-1-87 et le 5-2-87, 1 heure après la marée basse. Les paramètres bactériens ont été suivis aux mêmes profondeurs pour un total de 14 profils verticaux. Les échantillons ont été recueillis dans des flacons en verre préalablement stérilisés, remplis à ras-bord et fermés pour préserver les conditions redox *in situ*. Ils étaient maintenus à 28°C à l'obscurité jusqu'à leur traitement au laboratoire (90 min au maximum).

b. Paramètres physico-chimiques

La température et la salinité ont été déterminés à l'aide d'un SCT mètre YSI, la concentration en oxygène à l'aide d'un oxymètre YSI et le potentiel redox avec un pH mètre Schott Gerat® GG 819. Les concentrations en sulfure ont été déterminées par la méthode de Cline (1969).

c. Paramètres biologiques

La biomasse bactérienne a été déterminée par observation en microscopie à épifluorescence après coloration à l'acridine orange (Hobbie *et al.* 1977), à l'aide d'un analyseur d'image (Van Wambeke, 1988). Un oculaire photographique 6.7 x NFK autorisait une résolution finale de 0.186 µm par pixel. Un total de 1000-2000 bactéries étaient comptées sur 50 à 100 champs. Sept échantillons comptés à l'oeil et en analyse d'image ont montré une différence moyenne de 7,4%.

Les volumes cellulaires moyens ont été estimés en dénombrant les bactéries dans 29 classes de surface allant de 1 à 45 pixel (0.035 µm²/pixel) : 21 classes entre 1 et 21 pixel, 8 classes entre 22 et 45 pixel. Les cellules montrant une surface supérieure à 45 pixel² (donc un diamètre équivalent sphérique de 1,47 µm) ont été ignorées). L'intercalibration des résultats obtenus par l'analyse automatique d'image et par mesure sur photographies était basée sur les surfaces projetées. La conversion de la surface (S) en volume a été réalisée en utilisant l'expression $Vol = 0.582 \times S^{1.41}$ pour chaque cellule, meilleur ajustement pour les bactéries de la baie de Biétri (données non publiées).

La production bactérienne a été déterminée par l'incorporation de [*methyl*-³H]thymidine (20 nM) dans le TCA précipité (chap.2, méthodes). Les échantillons ont été incubés à l'obscurité à 28°C (moyenne sur les profils *in situ* ± 1°C). La quantité de marqueur disponible à l'époque de l'expérimentation n'a pas permis d'incuber les échantillons de l'hypolimnion en conditions anoxiques. Toutefois, la comparaison entre incubations en conditions oxygénées et anoxiques (selon le protocole décrit par Mc Donough *et al.* 1986) a été réalisée sur 2 profils verticaux pour examiner l'effet d'une réoxygénation artificielle des échantillons provenant de l'hypolimnion. Cette comparaison montre que le non respect des conditions anoxiques entraîne une augmentation de l'incorporation d'environ 15%. Cet effet est donc mineur pendant la courte durée d'incubation utilisée.

L'activité du système de transports d'électrons (ETS), les concentrations en pigments chlorophylliens, en carbone et en azote particuliers ont été déterminés selon les procédures décrites au chapitre 2 (méthodologie).

2 : L'essentiel de ces résultats est publié dans :

TORRETON, J.-P., GUIRAL, D., ARFI, R. (1989). Bacterioplankton biomass and production during destratification in a monomictic eutrophic bay of a tropical lagoon. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 57 : 53-67

2. Résultats et discussion

Pendant la durée de la campagne, 14 profils verticaux ont été étudiés. La déstratification proprement dite s'est réalisée entre le 30-01-87 et le 3-02-87. La colonne d'eau a donc été échantillonnée 11 fois en conditions stratifiées (discontinuité redox entre 3 et 4 m) et 3 fois après la déstratification. La figure 5.5 montre un exemple de la répartition verticale des paramètres physico-chimiques et biologiques au cours des phases stratifiée et "holomictique". Les valeurs moyennes sont représentées en tableau 5.1.

Tableau 5.1 : Valeurs moyennes des principaux paramètres déterminés dans la colonne d'eau de la baie de Biétri en période stratifiée et en période holomictique.

	Eh	O ₂	Chl. <u>a</u>	Phé	Pigm.	ETS	Thym.	Bact.	Vol. Cell. moyen	Thym./Cell. 10 ⁻²¹ mol cell ⁻¹ h ⁻¹	Cp	Np	H ₂ S
	mV	mg l ⁻¹	µg l ⁻¹	µg l ⁻¹	µg l ⁻¹	µeq. l ⁻¹ h ⁻¹	nmol. l ⁻¹ h ⁻¹	10 ¹⁰ l ⁻¹	µm ³		µg l ⁻¹	µg l ⁻¹	µmol l ⁻¹
Période Stratifiée	225 ^a	6.77	64.2	33.9	98.1	73.8	1.339	2.01	0.167	83.3	5094	944	0.0
Couche euphotique	15 ^b	2.55	16.6	22.0	30.2	18.8	0.417	0.64	0.027	1.73	1253	221	0.0
	30 ^c	30	30	30	30	30	30	18	5	12	11	11	30
Période Stratifiée	199	2.38	24.2	21.5	45.7	30.9	0.836	1.17	0.136	64.6	2092	442	7.5
Couche aphotique	25	1.64	11.4	13.5	20.6	8.3	0.379	0.47	-	2.79	17	63	21.2
	8	8	8	8	8	8	8	5	1	5	2	2	8
Période Stratifiée	220	5.84	55.8	31.3	87.1	64.8	1.233	1.82	0.162	77.8	4632	867	1.6
Total Epilimnion	20	2.98	22.7	21.0	35.6	24.6	0.455	0.69	0.028	21.9	1606	277	9.7
	38	38	38	38	38	38	38	23	6	17	13	13	38
Période Stratifiée	-175	0.09	7.7	13.3	21.0	16.1	0.201	0.51	0.203	34.1	700	115	178
Hypolimnion anoxique	58	0.38	7.2	12.2	17.7	5.7	0.176	0.27	0.017	19.1	461	64	248
	63	63	63	63	63	61	63	37	12	37	27	27	63
Période Déstratifiée	239	8.43	62.4	48.4	110.8	54.4	0.962	1.14	0.138	90.3	5052	736	0.0
Couche euphotique	8	2.18	15.5	22.1	37.1	11.3	0.240	0.41	0.027	31.6	615	60	0.0
	9	9	9	9	9	9	9	9	3	9	3	3	9
Période Déstratifiée	225	1.80	11.1	13.5	24.6	12.7	0.317	0.48	0.151	66.2	1002	163	0.0
Couche aphotique	20	1.01	9.6	5.0	12.6	6.5	0.148	0.15	0.018	19.4	480	94	0.0
	24	24	24	24	24	24	24	24	7	24	8	8	24

(a) : Moyenne , (b) : Ecart-type, (c) : Nombre de mesures,

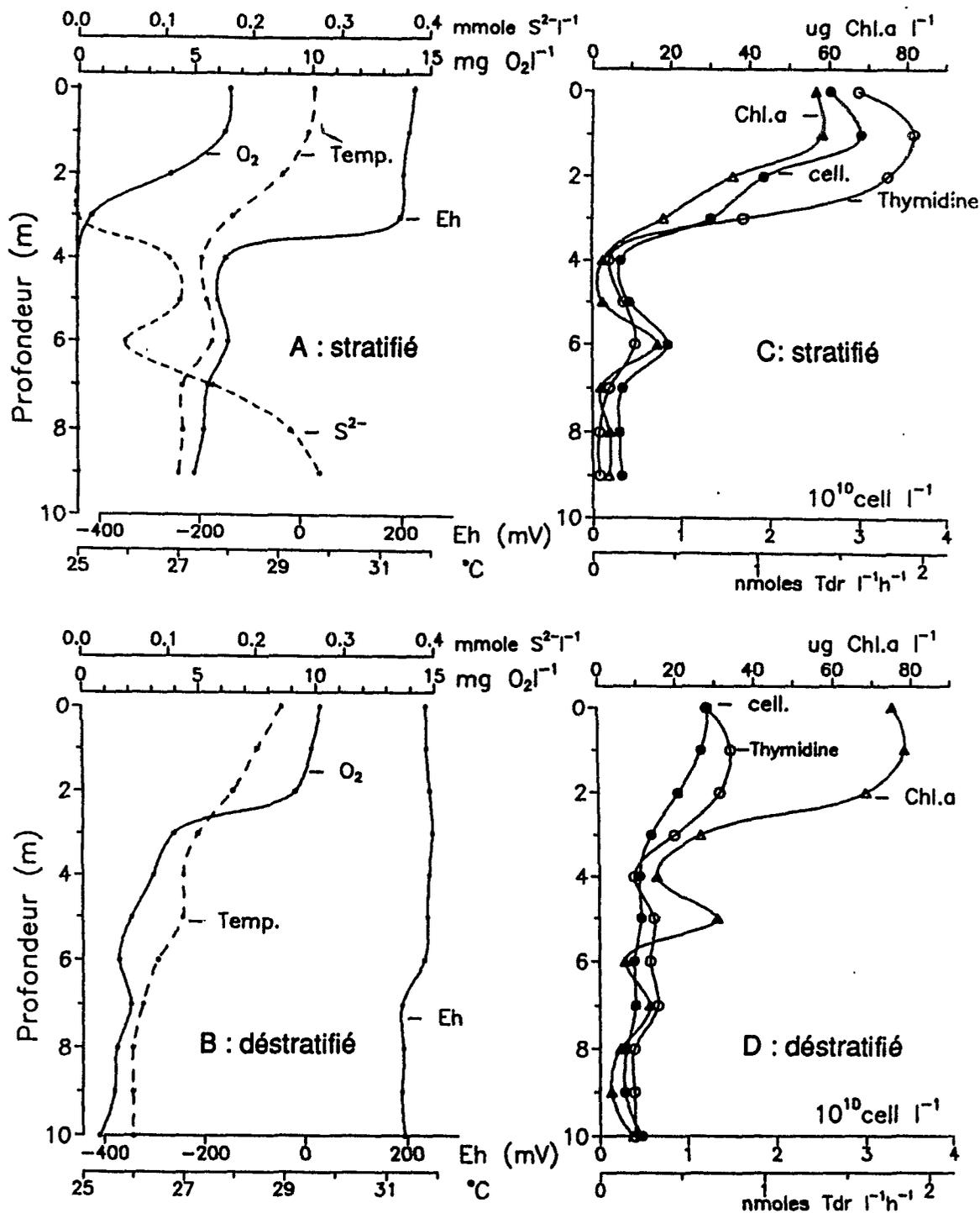


Figure 5.5 : Potentiel Redox, concentrations en oxygène et en sulfures, (A) colonne d'eau stratifiée (21-1-87) et (B) colonne d'eau déstratifiée (4-2-87). Chlorophylle *a*, abondance bactérienne totale et incorporation de thymidine, (C) colonne d'eau stratifiée (21-1-87) et (D) colonne d'eau déstratifiée (4-2-87).

a. Période stratifiée

Épilimnion

Durant la période de stratification, l'abondance bactérienne montre un maximum dans la couche euphotique (0-2 m) avec des valeurs comprises entre 1.02 et $3.23 \cdot 10^{10}$ cellules.l⁻¹ (moyenne 2.01) pour diminuer dans la couche aphotique de l'épilimnion oxygéné (2 à 3-4 m) avec des abondances comprises entre 0.47 et $1.84 \cdot 10^{10}$ cellules l⁻¹ (moyenne 1.17). Le volume cellulaire est en moyenne de $0,162 \mu\text{m}^3$ par cellule dans cette couche.

L'incorporation de thymidine dans le TCA précipité montre un maximum dans la couche euphotique de l'épilimnion, avec des valeurs comprises entre 1.0 et 2.0 nmol.l⁻¹h⁻¹ (moyenne 1,34) pour décroître dans les mêmes proportions que l'abondance cellulaire dans la couche aphotique (moyenne 0,836).

En conséquence, les incorporations spécifiques par cellule sont peu différentes dans la couche euphotique (60 à $114 \cdot 10^{-21}$ mol. cellule⁻¹h⁻¹, moyenne \pm écart-type : $83 \pm 17 \cdot 10^{-21}$) et dans la couche aphotique de l'épilimnion oxygéné (moyenne 65 ± 28).

L'activité ETS (fraction < $10 \mu\text{m}$) varie de 40 et 100 $\mu\text{eq.l}^{-1}\text{h}^{-1}$ (moyenne 74) dans la zone euphotique de l'épilimnion et de 22 à 46 dans la couche aphotique (moyenne 31).

Les concentrations en chlorophylle a montrent un maximum dans la couche euphotique de l'épilimnion (moyenne $64.2 \mu\text{g l}^{-1}$) et décroissent rapidement dans la zone aphotique (moyenne $24.2 \mu\text{g l}^{-1}$). Parallèlement la proportion de phéopigments augmente d'environ 30% dans la couche euphotique à 50% dans la couche aphotique.

Le Cp et le Np montrent la même tendance que les autres paramètres de biomasse (concentration des pigments et abondance bactérienne), présentant des concentrations maximales dans la couche euphotique et une diminution rapide dans la couche aphotique (Tab. 5.1).

Une stratification des biomasses et des activités est donc perceptible dès la couche oxygénée. Seule l'activité spécifique par cellule bactérienne peut être considérée comme similaire dans les deux couches.

Hypolimnion anoxique

Dès l'arrivée en conditions anoxiques, l'abondance bactérienne diminue pour atteindre des valeurs comprises entre 0.15 et $0.88 \cdot 10^{10}$ cellules l⁻¹ (moyenne 0.51) avec un biovolume moyen de $0,203 \mu\text{m}^3$. L'incorporation de thymidine décroît plus brutalement encore avec des activités de l'ordre de $0.1 - 0.5 \text{ nmol.l}^{-1}\text{h}^{-1}$ (corrigé de la surestimation due à l'incubation en conditions oxygénées) dans l'hypolimnion anoxique (Tab. 5.1, Fig. 5.5).

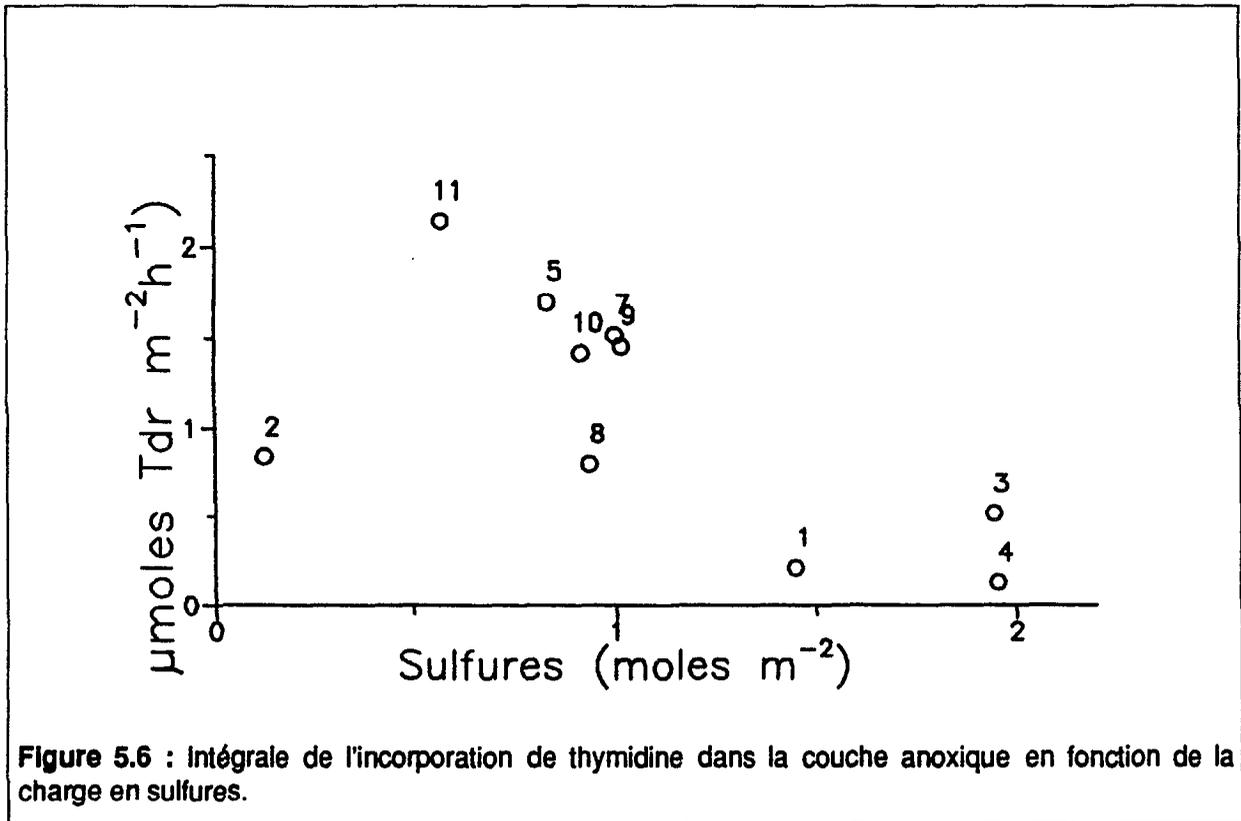
Les incorporations spécifiques par cellule sont donc plus faibles que dans la couche oxygénée avec des valeurs comprises entre 16 et $57 \cdot 10^{-21}$ mol. cellule⁻¹h⁻¹ (moyenne $34 \cdot 10^{-21}$).

L'activité ETS est également plus faible variant entre 5.6 et 32 $\mu\text{eq.l}^{-1}\text{h}^{-1}$ (moyenne 16.1). Les valeurs minimales des concentrations en pigments photosynthétiques, en Cp et en Np sont également retrouvées dans cette strate.

La stratification des biomasses et des activités planctoniques attendue en réponse à la stratification des paramètres physico-chimiques est donc également observée pour le bactérioplancton. L'hypolimnion anoxique est caractérisé par une biomasse bactérienne plus faible et un volume cellulaire moyen plus élevé que dans la couche supérieure. L'incorporation de thymidine y est significativement plus faible que dans l'épilimnion.

Dans les lacs stratifiés, le maximum de la production bactérienne est parfois situé à l'interface entre épilimnion oxygéné et hypolimnion anoxique (Mc Donough *et al.* 1986 ; Zehr *et al.* 1987 ; Bloem *et al.* 1989). Sur les 11 profils déterminés en conditions stratifiées au cours de cette étude, aucun maximum d'activité n'a pu être noté à l'interface. Il est possible, toutefois, que la maille d'échantillonnage utilisée (1 m) soit mal adaptée à l'intensité du gradient.

Les activités plus faibles obtenues dans la couche anoxique sont à attribuer à la fois à l'abondance réduite et à l'activité spécifique par cellule plus faible. Pendant la durée de l'étude l'incorporation de thymidine intégrée sur la colonne d'eau anoxique est inversement liée à la charge en sulfures dans l'hypolimnion (Fig. 5.6).



En principe, les procaryotes anaérobies stricts, ce qui est le cas des bactéries sulfato-réductrices, n'incorporent pas la thymidine exogène faute de thymidine kinase (cf. chap.2 : méthodologie). L'incorporation mesurée devrait donc être attribuée à des bactéries aérobies ou anaérobies facultatives. La charge en sulfures diminuant au cours des derniers jours précédant la déstratification, une première hypothèse pourrait faire intervenir un taux de mortalité bactérienne indépendant de la concentration en sulfures, et une vitesse de sédimentation accrue avec l'atténuation

du gradient. Les concentrations en chlorophylle *a* et en phéopigments n'étant pas significativement différentes dans les couches profondes avant et après la déstratification, cette hypothèse est toutefois peu vraisemblable. Une deuxième hypothèse consisterait à attribuer l'incorporation à des bactéries anaérobies facultatives se développant dans l'hypolimnion et moins actives lorsque la concentration en sulfures augmente. On peut enfin envisager que cette incorporation soit due à des bactéries aérobies fixées, sédimentant avec le matériel particulaire, et présentant un taux de mortalité augmentant avec la concentration en sulfures.

La signification exacte de l'incorporation de thymidine dans l'hypolimnion de la baie de Biétri reste à expliquer. Une incorporation de thymidine plus forte en conditions anaérobies qu'en conditions oxygénées a été mentionnée dans l'hypolimnion du lac Oglethorpe (USA, Mc Donough *et al.* 1986) et dans l'hypolimnion du lac Vechten (Pays-Bas, Bloem *et al.* 1989). L'effet inverse observé en baie de Biétri, c'est-à-dire la stimulation d'environ 15% lors de la réoxygénation artificielle des échantillons, pourrait être dû à la réactivation de bactéries hétérotrophes aérobies sédimentant depuis les couches supérieures ou à la stimulation par l'oxygène de bactéries anaérobies facultatives. Ces deux hypothèses sont en accord avec la relation inverse existant *in situ* entre incorporation de thymidine et charge en sulfures.

b. Colonne déstratifiée

Après la déstratification, l'abondance bactérienne varie de 0.78 à 2.14 10^{10} cellules l⁻¹ (moyenne 1.14) dans la couche euphotique (0-3 m) et de 0.26 à 0.95 10^{10} cellules l⁻¹ (moyenne 0.48) dans la zone aphotique. Dans la couche euphotique, les volumes cellulaires moyens montrent une moyenne (\pm Ecart-type) de $0.138 \pm 0.027 \mu\text{m}^3$ peu différente de celle déterminée dans la couche aphotique ($0.151 \pm 0.018 \mu\text{m}^3$).

Le maximum de l'incorporation est encore situé dans la zone euphotique mais il est réduit de manière significative (0.7 à 1.2 nmol.l⁻¹h⁻¹) par rapport aux activités déterminées pendant la période stratifiée. Sous la zone euphotique, l'incorporation varie entre 0.26 et 0.95 nmol.l⁻¹h⁻¹, des valeurs plus élevées, donc, que durant la période de stratification (Tab. 5.1, Fig. 5.5).

Les incorporations spécifiques par cellule dans la couche euphotique sont proches de celles déterminées lors de la période stratifiée (53 à 143 - moyenne 90 10^{-21} mol.cellule⁻¹). En dessous de cette zone, l'activité spécifique est plus faible (27 à 108 - moyenne 66), mais est supérieure à celle déterminée lors de la période d'anoxie (Fig. 5.7).

Les activités ETS sont comprises entre 31.6 et 66 $\mu\text{eq.l}^{-1}\text{h}^{-1}$ (moyenne 54) dans la zone euphotique pour décroître jusqu'à 6-30 $\mu\text{eq.l}^{-1}\text{h}^{-1}$ (moyenne 12.8) dans la zone aphotique oxygénée.

La répartition verticale des pigments photosynthétiques demeure inchangée après la déstratification. Les valeurs moyennes ne sont pas significativement différentes dans la couche euphotique pendant les deux situations hydrologiques, la couche aphotique présente là encore des concentrations plus faibles et une proportion de phéopigments plus élevée (Tab. 5.1).

Dans la couche euphotique, les concentrations moyennes en Cp et Np sont comparables à celles déterminées pendant la période stratifiée et décroissent dans la couche profonde dans les mêmes proportions qu'en période stratifiée (Tab. 5.1).

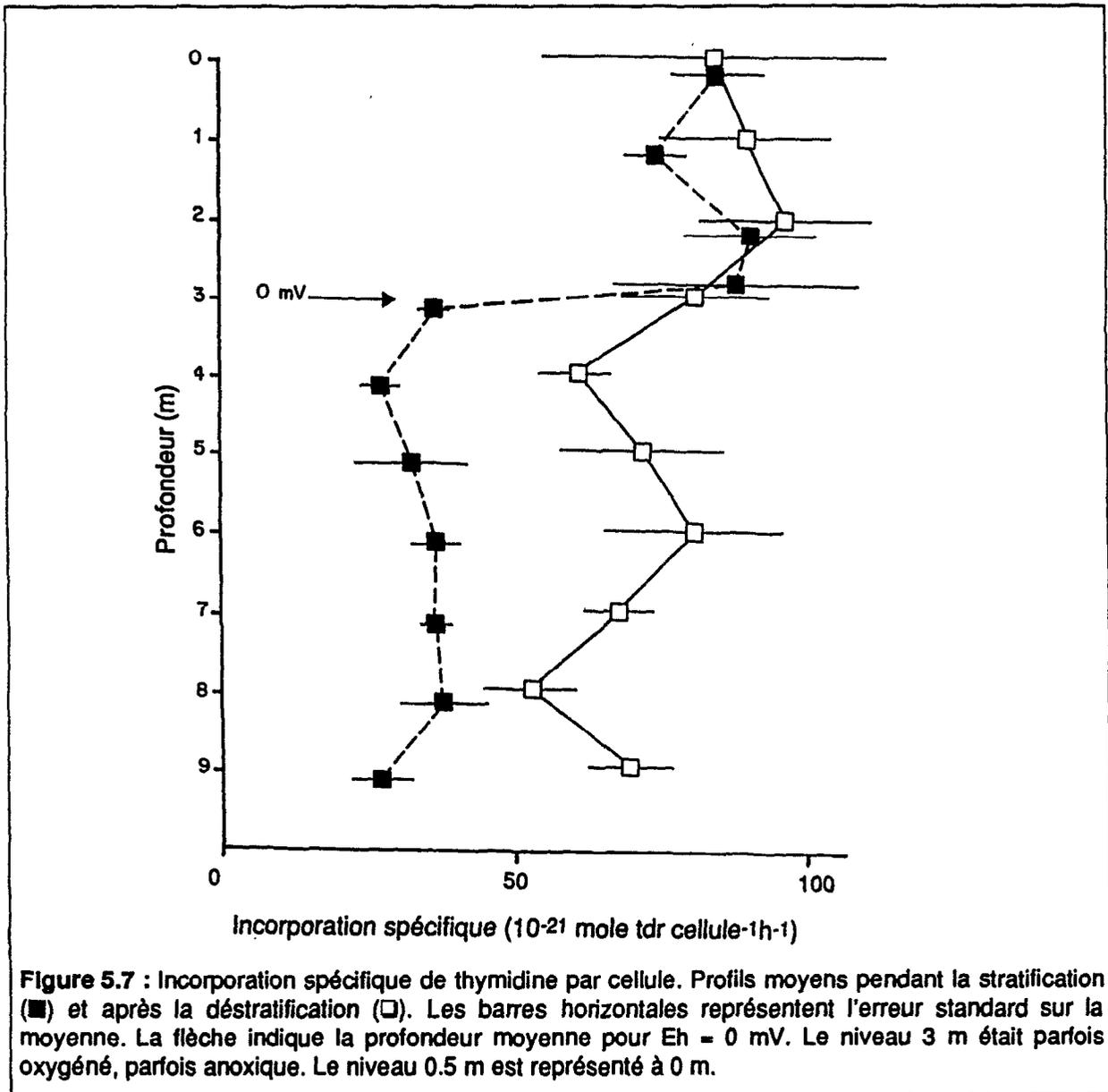


Figure 5.7 : Incorporation spécifique de thymidine par cellule. Profils moyens pendant la stratification (■) et après la déstratification (□). Les barres horizontales représentent l'erreur standard sur la moyenne. La flèche indique la profondeur moyenne pour $E_h = 0$ mV. Le niveau 3 m était parfois oxygéné, parfois anoxique. Le niveau 0.5 m est représenté à 0 m.

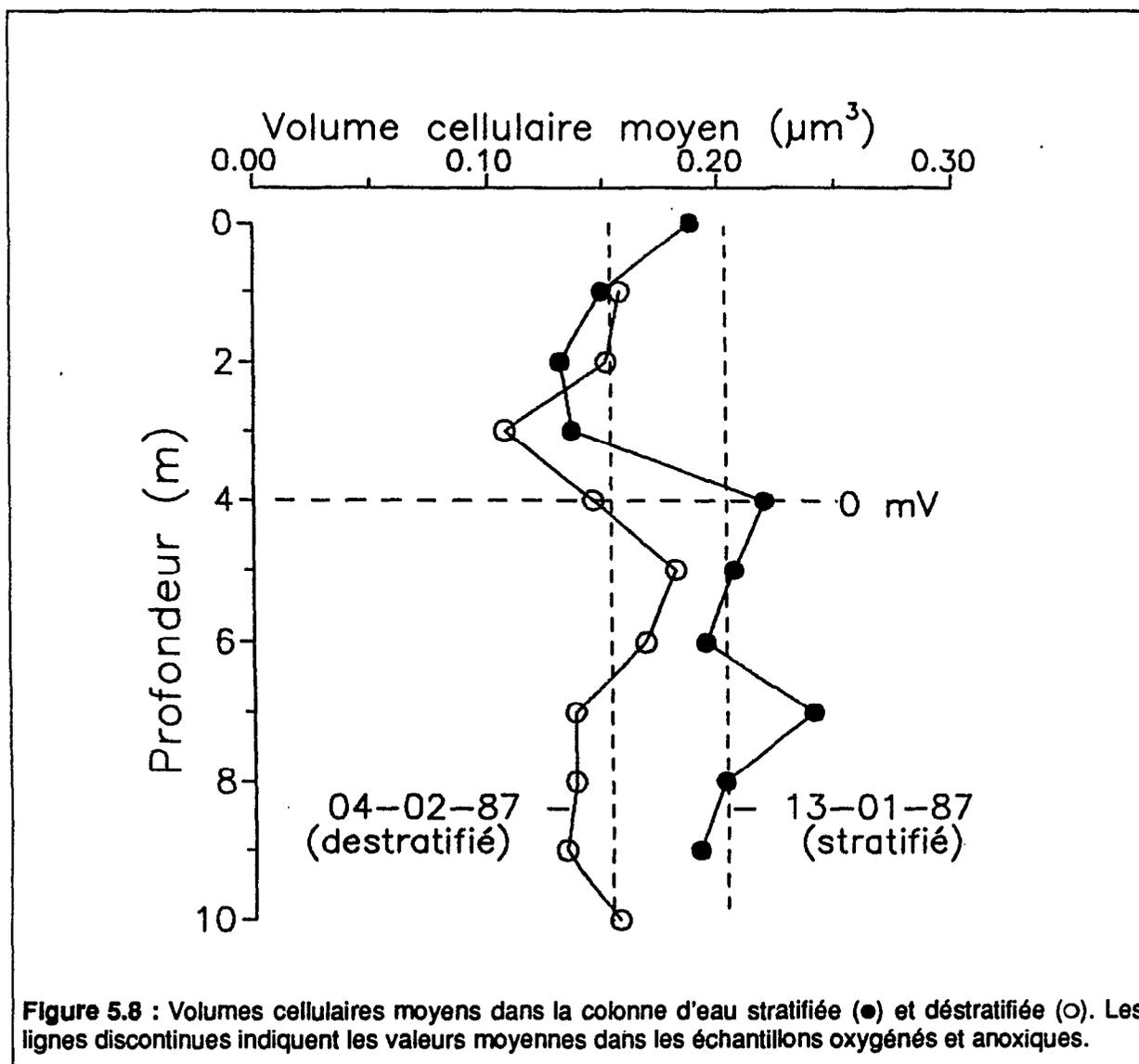
c. Comparaison des profils

Biovolumes bactériens

Les volumes cellulaires individuels moyens dans la colonne d'eau avant et après la déstratification sont représentés en figure 5.8. Sur les 28 déterminations effectuées la seule différence significative ($P < 0.001$, test non paramétrique de Mann-Whitney) est remarqu  e entre échantillons oxygénés et anoxiques : 16 échantillons provenant de la couche oxygénée montrent une moyenne (\pm Ecart-type) de $0.153 \pm 0.024 \mu\text{m}^3$ et 12 échantillons provenant de la couche anoxique conduisent à un volume moyen de $0.203 \pm 0.017 \mu\text{m}^3$ (Tab. 5.2). Les déterminations des volumes cellulaires dérivant des surfaces projetées, il est plus rigoureux d'effectuer le test sur celles-ci. La différence entre les moyennes des deux groupes est, là aussi, significativement différente de zéro ($P < 0.01$). Les différences sont en réalité plus importantes car l'examen microscopique des échantillons anoxiques montre la présence occasionnelle de grosses cellules de forme S non prises en compte par l'analyseur d'images (voir méthodes). Le volume cellulaire moyen déterminé dans les couches profondes représente donc une sous-estimation de la valeur réelle.

Tableau 5.2 : Moyenne des surfaces cellulaires projetées et volumes bactériens moyens déterminés au cours de cette étude.

Echantillons oxygénés				Echantillons anoxiques			
DATE	PROF. (m)	SURFACE (μm^2)	VOLUME (μm^3)	DATE	PROF. (m)	SURFACE (μm^2)	VOLUME (μm^3)
14-01-87	0	0.382	0.188	14-01-87	4	0.442	0.219
"	1	0.314	0.149	"	5	0.417	0.206
"	2	0.289	0.131	"	6	0.392	0.194
"	3	0.294	0.136	"	7	0.466	0.240
23-01-87	0	0.364	0.172	"	8	0.496	0.202
27-01-87	1	0.409	0.197	"	9	0.384	0.191
04-02-87	1	0.336	0.157	23-01-87	5	0.360	0.169
"	2	0.326	0.151	"	7	0.396	0.192
"	3	0.256	0.107	"	9	0.399	0.203
"	4	0.330	0.145	27-01-87	6	0.408	0.199
"	5	0.381	0.181	29-01-87	9	0.426	0.209
"	6	0.364	0.168	30-01-87	9	0.446	0.216
"	7	0.297	0.137				
"	8	0.304	0.137				
"	9	0.303	0.133				
"	10	0.345	0.156				
MOYENNE		0.331	0.153			0.412	0.203
ECART TYPE		0.041	0.024			0.029	0.017



Abondance bactérienne

Pendant la période d'oxygénation maximale, l'abondance bactérienne (et donc la biomasse, les volumes moyens avant et après la déstratification étant similaires dans cette couche) diminue de moitié dans les eaux de surface. La baisse simultanée de l'incorporation de thymidine est essentiellement due à cette décroissance de la biomasse car l'incorporation spécifique par cellule est similaire aux deux périodes (cf. Fig. 5.7).

Dans les eaux nouvellement oxygénées (3 à 10 m), l'abondance bactérienne totale est à peu près semblable à celle observée pendant l'anoxie. Par contre, la communauté anaérobie, caractérisée par un volume moyen élevé et une faible incorporation spécifique, est remplacée par un assemblage plus typique des eaux oxygénées avec un volume moyen plus faible et une activité spécifique par cellule plus élevée.

Si l'on considère la colonne d'eau dans son intégralité, l'abondance bactérienne décroît de $9.1 \cdot 10^{13}$ cell.m⁻² en moyenne ($\sigma = 3.0$) en période de stratification à $6.1 \cdot 10^{13}$ cell.m⁻² ($\sigma = 2.0$) en

moyenne en période holomictique. Une redistribution de la biomasse bactérienne dans la colonne d'eau ne peut donc expliquer la diminution de biomasse bactérienne dans les eaux superficielles. Elle serait de plus en contradiction avec la stabilité du carbone particulaire et de la biomasse algale.

Incorporation de thymidine

Intégrée sur la colonne d'eau, l'incorporation de thymidine est peu différente en période stratifiée ($5,3 \pm 1,3 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{h}^{-1}$) et en période holomictique ($4,9 \pm 1,3 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{h}^{-1}$). Mais il n'est pas certain, rappelons le, que l'on puisse comparer les incorporations en anoxie avec celles obtenues en conditions oxygénées. L'incorporation de thymidine dans les eaux oxygénées atteint en moyenne $4,0 \pm 0,4 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{h}^{-1}$ pendant la période stratifiée, donc un peu moins qu'en période holomictique où la colonne d'eau aérobie est plus importante. En utilisant le facteur de conversion moyen obtenu en lagune ($14,8 \mu\text{gC/nmol}$ de Tdr dans le TCA précipité, chap. 2 : méthodologie), on peut estimer la production de biomasse bactérienne à $1,42 \text{ gC m}^{-2}\text{d}^{-1}$ dans l'épilimnion pendant la période de stratification et à $1,74 \text{ gC m}^{-2}\text{d}^{-1}$ dans la totalité de la colonne d'eau après la déstratification. Les incorporations de thymidine dans l'hypolimnion anoxique n'ont pas été converties en production de biomasse car les conditions préalables (facteur de conversion, % ADN marqué, dilution isotopique) n'ont pas été vérifiées dans cette zone (cf chap. 2 : méthodologie).

La charge en chlorophylle *a* reste, elle, inchangée dans la couche euphotique entre la période de stratification (188 mg.m^{-2} SE=10) et le maximum de pénétration d'oxygène (180 mg.m^{-2} SE=13).

La production primaire n'a pas été déterminée en période holomictique, toutefois, le coefficient d'extinction plus faible à cette période, associé à la même biomasse phytoplanctonique suggère que celle-ci devait être au moins égale à celle déterminée en période de stratification. Rappelons que la production primaire en lagune est limitée par la lumière plutôt que par la disponibilité nutritive et ceci plus particulièrement en baie de Biétri (Dufour & Durand, 1982). Il est donc peu vraisemblable que l'activité et la biomasse bactériennes aient décliné en réponse à une baisse de l'activité de production primaire.

A l'opposé, Ducklow (1982) montre une augmentation de la biomasse et de la productivité bactérienne en réponse à la stimulation de la production primaire lors de la déstratification dans la York River. Si l'on ne peut pas s'attendre à une stimulation de la production primaire en baie de Biétri, et donc à un effet correspondant sur les activités bactériennes, l'importante diminution de la biomasse reste à expliquer. L'hypothèse d'une exportation accrue de cette biomasse par sédimentation est en désaccord avec la relative constance des charges en Cp et en Chlorophylle dans les couches profondes entre les deux périodes. D'autres hypothèses, comme l'augmentation de la pression de prédation sur les assemblages bactériens, ou l'effet "bactéricide" des eaux marines (Moebus, 1973) ne peuvent être vérifiées faute de données.

d. Importance des bactéries dans le rétablissement de l'anoxie

On peut estimer la production bactérienne à $113 \mu\text{gC}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ en moyenne dans la zone aphotique ($0,317 \text{ nmol l}^{-1}\cdot\text{h}^{-1} \times 14,8 \mu\text{gC nmol}^{-1} \times 24 \text{ h}$), le carbone respiré peut donc être estimé à $75 \mu\text{gC}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ (avec une efficacité de 60% chap. méthodes) dans cette zone après la déstratification, ce qui correspond à une consommation de $0,2 \text{ mgO}_2\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ en utilisant un quotient respiratoire de 1.

Cette estimation grossière montre que la quantité d'oxygène présente dans la zone aphotique ($1,8 \text{ mg l}^{-1}$) après la déstratification est trop faible pour permettre le maintien de l'oxygénation de manière durable. En effet, la diffusion de l'oxygène depuis la couche euphotique est limitée car le bilan net d'oxygène est en général nul sur 24 h (cf. chap. cycles). En conséquence l'anoxie s'installe de nouveau dans un court délai (environ 15 jours après la déstratification, cf. fig. 5.2), même en l'absence d'un gradient de densité. Cette situation est ultérieurement verrouillée par le gradient de densité s'établissant dès l'arrivée de la saison des pluies.

e. Interprétation des mesures d'ETS

La mesure de l'activité ETS présente l'intérêt de fournir une estimation de l'activité hétérotrophique potentielle valable en aérobiose et en anaérobiose (Packard, 1985). Elle présente l'inconvénient majeur de ne pas être spécifique des seuls organismes hétérotrophes. L'attribution de l'activité ETS globale, mesurée *in situ*, aux compartiments autotrophes et hétérotrophes peut être tentée par deux approches différentes.

L'approche *in vitro* consiste à déterminer les rapports entre l'activité ETS et un paramètre spécifique de chaque compartiment considéré, respectivement sur des souches de phytoplancton (Relexans *et al.* 1984 ; Romano *et al.* 1987a) et de bactéries (Christensen et Packard, 1978 ; Relexans *et al.* 1984) ou sur des assemblages bactériens naturels en cultures (Romano *et al.* 1987b). Cette approche présente l'avantage d'identifier le paramètre P le plus adapté à caractériser le compartiment considéré, c'est à dire celui présentant les plus faibles variations du rapport ETS/P avec la composition spécifique ou l'état physiologique. L'inconvénient de cette approche est que les organismes cultivés ne sont pas nécessairement représentatifs de ceux présents *in situ* et ne présentent pas, non plus, le même état physiologique.

L'autre approche, qui a été employée ici, consiste à estimer *in situ* les coefficients attribuables au phytoplancton et aux bactéries par régression.

L'activité ETS totale mesurée montre la même évolution générale que les autres paramètres descripteurs de biomasse. La matrice de corrélation de rangs montre que dans les couches aérobies, les relations entre activité ETS et abondance bactérienne et biomasse phytoplanctonique sont très hautement significatives (Tab. 5.3). Dans les couches anoxiques l'activité ETS et l'abondance bactérienne sont encore étroitement corrélés ce qui n'est plus le cas pour la chlorophylle a (Tab. 5.3).

Tableau 5.3 : Matrice de corrélation de rangs (Spearman) des paramètres déterminés au cours de la déstratification en baie de Biétri.

	Chl.a	Phéo.	Bactéries	ETS	Cp	Np
Couches oxygénées						
Chl.a		0,5146 (71) ***	0,7355 (56) ***	0,8397 (71) ***	0,8304 (24) ***	0,8765 (24) ***
Phéo.	0,5573 (62) ***		0,4098 (56) **	0,4767 (71) ***	0,1365 (24)	0,0583 (24)
Bactéries	0,3491 (36) *	-0,2544 (36)		0,8768 (56) ***	0,7544 (18) **	0,8369 (18) ***
ETS	0,2911 (59) *	0,0024 (59)	0,8030 (34) ***		0,7823 (24) ***	0,8137 (24) ***
Cp	0,7147 (26) ***	0,5590 (26) **	0,4336 (12)	0,1654 (25)		0,9426 (24) ***
Np	0,7657 (26) ***	0,6039 (26) **	0,2797 (12)	0,3228 (25)	0,8829 (26) ***	
Hypolimnion anoxique						
Coefficients (N) et niveau de signification avec *** p < 0,001 ; ** p < 0,01 ; * p < 0,05						

Activité ETS dans les couches oxygénées

Une régression linéaire multiple progressive a été utilisée pour tenter d'estimer la contribution bactérienne (et éventuellement des organismes étroitement associés aux bactéries comme les micro-hétérotrophes) à l'activité ETS totale.

Le modèle final montre que 89% de la variance de l'activité ETS peut être expliquée par les concentrations en chlorophylle a et l'abondance bactérienne (Tab. 5.4a). Le terme constant n'étant pas significativement différent de zéro, le modèle final a été forcé par l'origine, donnant l'expression suivante : $ETS = 0.576(Chl.a) + 18.6(Bact.)$ (n=56, ETS $\mu eq.h^{-1}$ à 28°C, Chl.a μg , Bact. 10^{10} cellules)

Le rapport ETS/Chlorophylle a est compris dans la gamme des valeurs reportées par Romano *et al.* (1987a) pour du phytoplancton méditerranéen.

Les rapports ETS/bactérie disponibles dans la littérature sont assez variables.

Tableau 5.4a : Régression multiple progressive pour expliquer la variable ETS.

(a) Couches oxygénées				
	Variables incorporées au modèle	Coefficient	Variables non incorporées	Corrélation Partielle
ETAPE 0 R ² = 0,000			CHL.a Phéo. Bactéries	0,876 0,614 0,866
ETAPE 1 R ² = 0,766	CHL.a	0,967	Phéo. Bactéries	0,100 0,750
ETAPE 2 R ² = 0,898	CHL.a Bactéries	0,588 19,41	Phéo.	0,202
MODELE FINAL		R ² = 0,898	n = 56	
Variable	Coefficient	Limites de l'intervalle de confiance (P=0,05)		
Bactéries	19,4	14,7	24,1	
CHL.a	0,588	0,452	0,720	
Constante	-2,04	-6,88	2,76	
MODELE FINAL FORCE PAR L'ORIGINE				
Variable	Coefficient	Limites de l'intervalle de confiance (P=0,05)		
Bactéries	18,6	14,3	22,8	
CHL.a	0,576	0,444	0,704	

En cultures *in vitro*, Christensen & Packard (1978) reportent des valeurs comprises entre 4 et $112 \cdot 10^{-10} \mu\text{eq.cellule}^{-1}\text{h}^{-1}$ pour cinq espèces de bactéries marines. Toutefois, dans ces travaux, les bactéries sont dénombrées sous forme d'UFC (Unités Formant Colonie). Même si l'on peut admettre qu'un UFC équivaut à une cellule dans une population croissant sur milieu enrichi, il est bien connu que les bactéries cultivées présentent une taille moyenne plus importante que le bactérioplancton *in situ*. Relexans *et al.* (1984) reportent 176 à 188 $10^{-10} \mu\text{eq.cellule}^{-1}\text{h}^{-1}$ pour deux espèces de bactéries planctoniques d'eau douce. Romano *et al.* (1987b) reportent des rapports variant de 10 à $142 \cdot 10^{-10} \mu\text{eq.cellule}^{-1}\text{h}^{-1}$ pour des assemblages bactériens naturels en phase exponentielle de croissance.

Enfin, *in situ*, Romano & Navarro (1985) ont calculé un rapport ETS/bactérie de $25 \cdot 10^{-10} \mu\text{eq.cellule}^{-1}\text{h}^{-1}$ basés sur des dénombrements par microscopie à épifluorescence effectués sur des échantillons d'eaux usées de la ville de Marseille. Dans cette zone la biomasse bactérienne dépasse probablement la biomasse phytoplanctonique ($1.4 \cdot 10^{10}$ cellules l⁻¹ et $1.66 \mu\text{g Chl.}_a$ l⁻¹). Cette valeur se situe dans la gamme $18 - 74 \cdot 10^{-10} \mu\text{eq.cellule}^{-1}\text{h}^{-1}$ à 20 C (surestimée à cause de la présence de cyanobactéries) recalculée à partir des données de Bell & Ahlgren (1987) dans le lac Norrvikken.

Ces deux dernières valeurs sont proches du coefficient $18.6(\pm 4.3) \cdot 10^{-10} \mu\text{eq.cellule}^{-1}\text{h}^{-1}$ déterminé au cours de cette étude. En utilisant ce coefficient les bactéries représenteraient 46 à 87% de l'activité ETS totale dans l'épilimnion oxygéné en période stratifiée (moyenne 66%). Dans la

colonne d'eau déstratifiée l'ETS bactérien représenterait en moyenne 53% de l'ETS total dans la zone euphotique et 96% dans la zone aphotique (moyenne 67% dans la totalité de la colonne d'eau).

Le compartiment bactérien semble donc responsable de la majeure partie de l'activité ETS totale mesurée (<10 µm) en baie de Biétri. Une revue de Packard (1985), rassemblant les résultats de travaux variés sur l'activité ETS, reporte des valeurs moyennes de rapports respiration/ETS très différentes selon les organismes considérés. Les bactéries, les protozoaires et le phytoplancton montrent ainsi des rapports respectivement de 1.1, 0.25 et 0.17 (ETS et respiration exprimés dans les mêmes unités). Le rapport nettement plus élevé pour les bactéries (la valeur >1 est attribuée à des conditions sub-optimales de mesure, Packard, 1985) que pour les autres organismes suggère que la contribution bactérienne à l'activité respiratoire totale est largement prédominante même dans la couche euphotique. Ces résultats sont en accord avec une analyse statistique similaire effectuée directement à l'aide des mesures de respiration (chap. 2 méthodologie) et confirment donc l'importance de la contribution bactérienne à l'activité respiratoire totale.

Activité ETS dans les couches anoxiques

L'estimation de la répartition de l'activité ETS dans la couche anoxique a été tentée de la même manière que dans la couche oxygénée (Tab. 5.4b). La chlorophylle *a* a été rejetée par la régression pas-à-pas et 61% de la variance ETS peuvent être expliqués par la relation :

$$\text{ETS} = 23.0 (\text{Bact.}) + 6.0 (\text{mêmes unités que l'expression précédente})$$

Le rapport ETS/bactérie n'est pas significativement différent de celui déterminé dans les eaux oxygénées bien que l'incorporation spécifique de thymidine par cellule soit significativement plus faible. Il est connu que l'oxydation d'un même composé libère moins d'énergie à -250 mV qu'en conditions aérobies. De plus, la matière organique sédimentant depuis les niveaux supérieurs contient probablement une plus forte proportion de matériel réfractaire que dans l'épilimnion. Les activités ETS élevées obtenues dans l'hypolimnion suggèrent néanmoins des activités minéralisatrices potentielles élevées dans cette zone, en accord avec la forte abondance des bactéries sulfato-réductrices reportée par Caumette (1986).

Tableau 5.4b : Régression multiple progressive pour expliquer la variable ETS dans les couches anoxiques.

	Variables incorporées au modèle	Coefficient	Variables non incorporées	Corrélation Partielle
ETAPE 0 R ² = 0,000			CHL.a Phéo. Bactéries	0,429 0,162 0,787
ETAPE 1 R ² = 0,619	Bactéries	23,0	CHL.a Phéo.	0,203 0,177
MODELE FINAL		R ² = 0,619	n = 34	
Variable	Coefficient	Limites de l'intervalle de confiance (P=0,05)		
Bactéries	23,0	16,5	29,5	
Constante	5,96	2,64	9,32	

3. Conclusion

L'objectif essentiel de cette étude était d'étudier l'effet sur la biomasse et l'activité bactérienne de la déstratification, période d'intenses changements des conditions physico-chimiques dans la colonne d'eau.

L'évolution des caractéristiques physico-chimiques par son intensité et sa rapidité est, on l'a vu, probablement à relier aux changements de l'environnement redox par le biais de mécanismes d'adsorption et de complexation purement physiques (Guiral *et al.* 1989b). Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que le processus de déstratification se traduit donc principalement par un remplacement des communautés anaérobies de l'hypolimnion, caractérisées par un volume moyen élevé et une faible activité spécifique d'incorporation de thymidine, par un assemblage typique des eaux oxygénées avec un volume moyen plus faible et une activité spécifique plus élevée. L'interprétation des activités déterminées dans la couche aphotique en terme de demande en oxygène montre que l'oxygénation de cette couche profonde est nécessairement transitoire, ce qui est confirmé par l'évolution annuelle des concentrations en oxygène. Le processus de déstratification se traduit par une baisse non expliquée de la biomasse bactérienne dans les couches supérieures, baisse en partie compensée par l'augmentation temporaire de la colonne d'eau oxygénée. La stimulation des activités, observée à la suite de la déstratification dans d'autres écosystèmes (Ducklow, 1982), n'est pas vérifiée en baie de Biétri. Dans ce milieu, la redistribution verticale des éléments nutritifs lors de la déstratification ne peut pas entraîner un bloom phytoplanctonique dans la mesure où ces éléments ne sont pas limitants en période de stratification. Les bactéries hétérotrophes apparaissant contrôlées plus par la prédation que par la disponibilité nutritive (Chap. 3 et 4), il est peu probable qu'une augmentation de la production photosynthétique (ce qui en l'occurrence n'est pas observé) eût entraîné une augmentation de la production bactérienne.

L'influence de la déstratification annuelle en baie de Biétri est finalement d'une importance quantitative sur les paramètres bactériens mesurés (productivité et biomasse), bien plus faible que ne le laissent supposer d'aussi fortes variations de l'environnement physico-chimique. On ne peut que constater, là encore, la relative constance de la biomasse et de la productivité bactériennes à l'échelle de temps étudiée.

Chapitre 6 : CONCLUSION GENERALE

L'objectif principal de ce travail était d'apprécier l'importance quantitative des bactéries hétérotrophes aérobies dans différents biotopes de la lagune Ebrié, qui comme de nombreux milieux lagunaires est caractérisée par une forte variabilité spatio-temporelle des caractéristiques physiques et chimiques. Sur le terrain, la démarche a consisté à estimer à différentes échelles de discontinuité la biomasse, la production de biomasse et les exportations bactériennes.

En écologie microbienne l'approche quantitative est récente et la méthodologie est donc encore imparfaite. Indissociables de l'étude écologique dans l'état actuel des connaissances, les recherches méthodologiques continuent de recevoir une large attention. On peut donc dégager deux axes majeurs du travail présenté ici : d'abord une critique de la stratégie et des technologies utilisées pour ce type d'approche d'écologie microbienne, enfin des informations sur le fonctionnement du compartiment hétérotrophe bactérien en lagune Ebrié et leur incidence probable dans la chaîne trophique lagunaire.

Méthodologie

Sur le plan méthodologique, l'essentiel des efforts a porté sur la détermination de la production de biomasse bactérienne. La mesure de la productivité bactérienne au moyen de l'incorporation de thymidine est actuellement la méthode la plus employée et la plus discutée. Le travail réalisé au cours de cette étude montre qu'il convient d'apporter une attention particulière à certains postulats implicites.

- L'incorporation préférentielle de la thymidine dans l'ADN bactérien n'est pas vérifiée en lagune Ebrié. Si cette constatation a également pu être effectuée dans d'autres écosystèmes, essentiellement continentaux, l'importance du choix de la méthode de fractionnement des macromolécules marquées n'a été que rarement soulevée (Servais *et al.* 1987; Wicks & Roberts, 1987). Dans l'écosystème lagunaire Ebrié, l'extraction de l'ADN bactérien marqué donne des résultats très différents selon la méthode employée. Les comparaisons effectuées au cours de cette étude montrent que l'emploi de l'extraction enzymatique donne les résultats les plus fiables. Ces différences pourraient être attribuées à une forte proportion du marquage non spécifique par la ^3H -thymidine, augmentant l'imprécision des méthodes de fractionnement peu spécifiques comme l'extraction au phénol-chloroforme et l'hydrolyse acide-base. Dans les écosystèmes continentaux, généralement caractérisés par une faible proportion du marquage ^3H -thymidine dans l'ADN (Hobbie, 1988), on ne peut que recommander la comparaison des différentes approches existantes au moyen de différents traceurs.

- La proportion du marquage dans l'ADN apparaît constante dans les eaux oxygénées, aux sites lagunaires étudiés. Cette observation, non encore expliquée, a déjà été effectuée dans d'autres

écosystèmes (Servais, 1987 ; Ducklow *et al.* 1990 ; Bell & Riemann, 1989). Il conviendrait d'examiner si les fortes variations observées au cours de certaines études (Robarts *et al.* 1986 ; McDonough *et al.* 1986 ; Hollibaugh, 1988 ; Bloem *et al.* 1989) ne proviennent pas de la méthode acide-base employée. La proportion du marquage dans l'ADN des bactéries des eaux anoxiques de la lagune Ebrié n'a pu être déterminée faute de temps. L'estimation précise de la production bactérienne dans les couches anoxiques nécessiterait donc un travail complémentaire.

- L'interprétation des résultats d'incorporation en terme de production bactérienne est très largement dépendante de la valeur du facteur de conversion entre incorporation de thymidine et production de biomasse bactérienne. La détermination de ce facteur est une étape cruciale de la méthode. Les résultats reportés dans la littérature, exprimés généralement en cellules produites par mole de thymidine incorporée sont très variables d'un milieu à l'autre et parfois d'une saison à l'autre. En lagune Ebrié, ce rapport a été déterminé sur des assemblages bactériens issus des trois baies étudiées et à différentes saisons lagunaires. D'une manière générale, l'incorporation de thymidine est mieux corrélée à l'augmentation de biomasse qu'à la production de cellules. Ce facteur est peu variable entre les sites et les périodes étudiés. Un facteur de conversion unique (moyenne des 12 déterminations) a donc été retenu. Toutefois, sur le marquage macromoléculaire total par la thymidine, la proportion retrouvée dans l'ADN est en moyenne d'environ 50% en phase exponentielle de croissance, ce qui conduit à une surestimation de la production par un facteur 2,5 si l'extraction n'est pas réalisée. Cette observation confirme l'importance de l'extraction spécifique de l'ADN.

- On doit s'interroger sur la validité des facteurs de conversion déterminés empiriquement sur des assemblages bactériens en culture montrant, en lagune Ebrié comme dans bien d'autres milieux, un taux de croissance moyen bien supérieur à celui déterminé sur les communautés naturelles *in situ*. La comparaison des valeurs de productivité bactérienne obtenues au moyen de traceurs avec des mesures indépendantes est de plus en plus employée. Habituellement cette comparaison permet de valider les résultats obtenus avec les traceurs (Cole *et al.* 1989 ; Jensen *et al.* 1990 ; Cammen, 1991). L'approche indépendante effectuée au cours de cette étude a permis de montrer que ce facteur de conversion était en bon accord avec l'activité respiratoire attribuée par régression aux bactéries hétérotrophes aérobies. En faisant intervenir la biomasse phytoplanctonique et l'activité bactérienne, l'approche utilisée ici explique davantage la variable respiration que celle utilisée par Dufour (1984) dans le même milieu, uniquement basée sur les concentrations en pigments photosynthétiques. De la même manière, en utilisant les biomasses (ou l'activité de prédation) du nanoplancton hétérotrophe, on obtiendrait probablement une meilleure analyse de la respiration totale et donc de la contribution bactérienne. Il n'a pas été possible d'effectuer cette analyse séparément sur les trois sites étudiés. Les faibles variations des trois paramètres à relier (respiration, chlorophylle a et activité bactérienne) sur chaque site ne permettent pas d'y obtenir une corrélation satisfaisante. Cette approche mériterait d'être poursuivie sur des radiales montrant des gradients bien établis de ces paramètres, comme dans les zones de front.

• Le choix de la méthode de mesure de la prédation sur les bactéries est également un paramètre important, car toutes les méthodes ne sont pas également applicables selon les milieux (Pace, 1988). Certaines méthodes, dont la validité a pu être démontrée dans d'autres milieux, se sont révélées inadéquates en lagune Ebré. Ainsi, le cycloheximide, inhibiteur des eucaryotes prédateurs, semble également affecter la croissance bactérienne dans le milieu lagunaire étudié. La mesure de la décroissance du marquage de l'ADN bactérien par la ^3H -thymidine (Servais *et al.* 1985) semble également inappropriée dans les conditions expérimentales employées au cours de cette étude, en raison de la faible spécificité du marqueur vis-à-vis de sa molécule cible. La possibilité d'extraire spécifiquement l'ADN au moyen de la DNase devrait conduire à de nouveaux essais de cette méthode dans le milieu lagunaire. Au cours de cette étude, les meilleurs résultats ont été obtenus en employant deux inhibiteurs bactériens : la streptomycine et la pénicilline. Cette méthode implique toutefois un grand nombre de dénombrements bactériens en microscopie, étape souvent limitante dans les programmes d'écologie microbienne. Elle nécessite également de longues durées d'incubation, peu compatibles avec des études à courtes échelle de temps comme l'étude des variations nyctémérales. Les approches de type traceur (ingestion de bactéries marquées par un fluorochrome, technique "MiniCap" cf. chap.2 méthodes) seraient certainement plus performantes car plus rapides.

L'étude méthodologique ayant permis, d'une part, de justifier les approches utilisées et d'établir les facteurs de conversion à employer pour déterminer les différents paramètres bactériens (biomasse et flux), d'autre part, de préciser leurs limites, la deuxième étape consiste à établir la représentativité des caractéristiques bactériennes estimées au cours de ce travail. Cette deuxième étape permet de préciser les limites dans l'interprétation du fonctionnement des communautés bactériennes hétérotrophes dans le milieu lagunaire.

Variabilité des paramètres bactériens

Les études qui se sont succédées en lagune Ebré ont toutes fait apparaître une forte variabilité à différentes échelles de temps et d'espace. L'étude réalisée ici n'a pas la prétention d'être exhaustive, néanmoins différentes échelles de variations des paramètres bactériens (biomasse, production de biomasse et taux de croissance dans les fractions libre et fixée) ont pu être abordées. L'importance de cette variabilité à différentes échelles de temps et d'espace peut être illustrée par les valeurs des coefficients de variations des différents paramètres déterminés (Tab 6.1 et 6.2).

• La variabilité temporelle des caractéristiques bactériennes a été abordée à l'échelle de la journée (dans une enceinte expérimentale et à l'extérieur), du mois et des saisons.

A l'échelle journalière, dans l'enceinte, les variations sont de faible amplitude pour les paramètres bactériens. L'abondance bactérienne totale (cellules libres et cellules fixées) varie d'un peu plus de 10% autour de la moyenne journalière, alors que la production de biomasse et le taux de croissance varient d'un peu plus de 20% (Tab. 6.1a). Ces variations sont dues à une évolution cohérente sur un cycle de 24 h, se traduisant par un maximum nocturne qui peut être attribué aux conséquences de l'activité zooplanctonique. Les communautés libres montrent la même évolution

structurée. Par contre les communautés fixées montrent une plus forte variabilité des trois paramètres sur 24 h, ne correspondant cette fois à aucune évolution cohérente. Une part de cette variabilité doit être attribuée à l'imprécision des mesures, comme l'atteste le coefficient de variation généralement plus faible en baie de Biétri, où la proportion fixée est plus importante qu'aux deux autres sites. Ces variations montrent la relative indépendance des fractions libres et fixées des communautés bactériennes dans le milieu lagunaire. Dans les trois baies, les fluctuations journalières présentent la même importance et la même tendance dans le milieu environnant l'enceinte à l'exception des communautés fixées. Dans le milieu extérieur, en effet, la production des communautés fixées est plus importante de jour que de nuit. Les paramètres liés aux communautés fixées apparaissent étroitement corrélés à la concentration en matériel particulaire détritique. Dans les zones peu profondes, celle-ci est probablement dépendante de la remise en suspension périodique du dépôt sédimentaire superficiel liée à l'hydrodynamisme induit par les vents diurnes. Cette augmentation diurne n'est pas observée dans l'enceinte où l'effet du vent est amorti. Dans les eaux lagunaires, généralement peu profondes, les alternances entre remise en suspension et sédimentation déterminent, probablement de manière essentielle, les variations à court terme des paramètres liés aux communautés bactériennes fixées.

Rappelons que si les fluctuations à court terme des caractéristiques bactériennes sont d'amplitude limitée dans les baies étudiées, ces fluctuations prennent une importance considérable dans les zones de front soumises aux alternances d'eaux marines et lagunaires aux caractéristiques très différentes (cf. fig. 3.1).

La biomasse et la production de biomasse bactériennes ont été étudiées sur une échelle de temps plus longue en baie de Biétri. Sur une période d'un mois, en phase de stratification des eaux, les coefficients de variations se situent entre 20 et 30% dans la couche euphotique, entre 30 et 40% dans l'ensemble de l'épilimnion (couches euphotique et aphotique) et atteignent 50 à 60% dans l'hypolimnion. Dans cette dernière couche, ces importantes variations sont à attribuer à des contraintes physiques drastiques et relativement variables comme la charge en H_2S (CV : 53%). Ainsi, l'incorporation de thymidine intégrée par m^2 varie en raison inverse de la charge en sulfures dans l'hypolimnion (chap.5, fig 5.6). Ces fluctuations importantes dans l'hypolimnion n'influencent toutefois que faiblement la colonne d'eau prise dans son ensemble car les valeurs moyennes sont beaucoup plus faibles que dans l'épilimnion.

L'évolution saisonnière des paramètres bactériens présente des amplitudes modérées, tant dans les eaux de surface, que sur les valeurs dans la couche 0-3 m intégrées par m^2 , puisqu'elles n'atteignent en moyenne sur les trois sites que 20 à 30% pour la communauté totale. La distinction entre bactéries libres et bactéries fixées montre que les différences les plus marquées (50-60%) sont retrouvées au niveau des communautés fixées, dont la proportion augmentant considérablement avec la charge en matériel particulaire en période de crues, montre, là encore, l'indépendance des communautés libres et fixées.

Enfin, même l'homogénéisation annuelle de densité en baie de Biétri, période de changements majeurs des caractéristiques physiques et chimiques de la colonne d'eau n'apparaît pas influencer de manière remarquable la biomasse et l'activité bactériennes.

- La variabilité spatiale a été abordée sous un double aspect : la répartition verticale au sein de chaque site et les différences entre sites (répartition "horizontale") des biomasses et activités bactériennes.

Sur le plan vertical, dans la colonne 0-3 m étudiée, les variations sont faibles pour les paramètres caractérisant les communautés totales et libres (CV de 10 à 20%, Tab. 6.2). Les communautés fixées varient de manière plus importante. Cette importance est à attribuer essentiellement à la précision plus limitée des mesures comme le suggèrent encore une fois les plus faibles variations observées en baie de Biétri. La seule évolution cohérente est observée en baie de Biétri où biomasses et productions bactériennes diminuent d'environ 30% lors du passage dans la couche aphotique entre 1,5 et 2 m (cf. chap.4 et 5, voir également tab. 6.2). La colonne 0-3 m des baies d'Abou-Abou et Mopoyem peut donc être considérée comme homogène pour les paramètres bactériens étudiés, comme pour la plupart des autres paramètres (chlorophylle *a*, seston total, phosphore particulaire, sels nutritifs, Lemasson *et al.* 1981). Cette homogénéité simplifierait considérablement une étude ultérieure à vocation plus exhaustive.

Dans les zones relativement profondes des sites estuariens (Abou-Abou et Biétri), la présence d'un hypolimnion anoxique se traduit par une diminution importante des biomasses, activités et activités spécifiques bactériennes (voir tab. 6.2 en baie de Biétri). Lorsqu'elle a pu être déterminée, la proportion de biomasse et d'activité attribuable aux communautés fixées s'élève significativement au dessus des valeurs de la couche 0-3 m (chap.4) montrant que les communautés des couches profondes doivent une large part de leur activité à une "pluie" de matière organique issue des couches supérieures. Cette observation est étayée par l'activité spécifique plus élevée des bactéries fixées sur particules dans cette couche, tendance qui n'était pas observée dans les couches supérieures.

Sur le plan horizontal, les différences entre les trois sites sont très marquées au niveau des communautés totales, pour l'abondance (CV : 60-65%) et la production de biomasse (CV : 73-77%). La baie de Biétri est en effet caractérisée par une biomasse et une production bactérienne 2 à 3 fois plus élevée qu'aux deux autres sites. La proportion de bactéries fixées y est également plus importante puisqu'elle y atteint 30% en moyenne (moyenne des trois saisons) contre 19% à Abou-Abou et à Mopoyem. A l'opposé, le volume cellulaire moyen varie peu avec le site d'étude (CV=12%). Cependant, il est en moyenne plus élevé en baie de Biétri ($0,12 \mu\text{m}^3$) qu'aux deux autres sites ($0,10 \mu\text{m}^3$). La composition des communautés bactériennes en types morphologiques, discernables en microscopie à épifluorescence, diffère également peu d'un site à l'autre. La seule différence notable réside dans la proportion des formes C, plus abondantes en zone continentale (Mopoyem) qu'en zone estuarienne (Biétri et Abou-Abou). Dans les sites estuariens ces formes C deviennent plus abondantes en saison des crues et pourraient donc être inféodées aux eaux oligohalines. Les activités spécifiques cellulaires (et donc les taux de croissance) varient également beaucoup moins que la

biomasse et la production avec le site d'étude (CV : 20%). Les plus faibles valeurs sont retrouvées en baie de Mopoyem. Le temps de renouvellement moyen de la biomasse bactérienne varie donc faiblement sur l'ensemble des sites étudiés (dans les eaux oxygénées). Cette faible variation est à relier à l'amplitude de variation, également modérée, de l'activité de prédation des eucaryotes sur les bactéries (CV = 24%, tab. 6.2).

En résumé, à toutes les échelles de temps abordées, le coefficient de variation des paramètres bactériens ne dépasse pas 30%, à l'exception des proportions fixées qui évoluent de manière plus importante. Entre sites, les différences les plus importantes sont observées entre la baie de Biétri, milieu fortement pollué (moyenne en surface pour l'abondance, $3 \cdot 10^{10}$ cellules l⁻¹ et pour la production $29 \mu\text{gC l}^{-1}\text{h}^{-1}$), d'une part, et les baies de Abou-Abou et de Mopoyem (milieux estuarien et continental non pollués) d'autre part (moyennes respectives $1.1 \cdot 10^{10}$ et $1.2 \cdot 10^{10}$ cellules l⁻¹ et $10 \mu\text{gC l}^{-1}\text{h}^{-1}$ et $8 \mu\text{gC l}^{-1}\text{h}^{-1}$). Ces deux derniers sites montrent des biomasses et des activités comparables. La colonne 0-3 m de ces deux sites peut être considérée comme homogène. En baie de Biétri la biomasse et l'activité bactérienne diminuent d'environ 30% dans la couche aphotique. Enfin dans les zones profondes désoxygénées des milieux estuariens tous les paramètres diminuent dans de fortes proportions. De ce fait, la biomasse et l'activité (en terme d'incorporation de thymidine) dans ces couches profondes ne représentent qu'une faible part de celles de la colonne complète.

On peut donc considérer que les processus bactériens tels qu'ils ont été étudiés ici montrent une relative constance. Signalons que cette faible variabilité en terme de biomasse et de production totales recouvre très probablement des réalités très différentes au niveau de la composition spécifique des peuplements étudiés. Ainsi le rapport des effectifs bactériens totaux (déterminés par observation en microscopie à épifluorescence) aux effectifs déterminés par culture sur milieux nutritifs (Carmouze & Caumette, 1985 1) est d'environ 150 en baie de Biétri 2 et s'élève à $2 \cdot 10^5$ en baie d'Abou-Abou 2 et $3 \cdot 10^4$ à Mopoyem 3. On comprend effectivement que les communautés bactériennes de la baie de Biétri montrent une plus forte proportion de bactéries capables de croître sur des milieux enrichis que celles issues des baies de Abou-Abou et Mopoyem, moins eutrophes. Pourtant la biomasse et la production bactérienne ne sont en moyenne que 3 fois plus élevées en baie de Biétri qu'aux deux autres sites. Les souches isolées sur milieux enrichis montrent également des caractéristiques très différentes selon la nature estuarienne (Gram - dominants à Abou-Abou) ou continentale (Gram + dominants à Tiegba proche de Mopoyem) des eaux étudiées (Caumette *et al.* 1991). Les biomasses et les activités bactériennes déterminées au cours de cette étude sont pourtant comparables à Abou-Abou et à Mopoyem pour des valeurs également comparables de production primaire et de respiration totale. Ce dernier fait souligne le fonctionnement similaire des communautés bactériennes issues des milieux continentaux et marins (Hobbie, 1988).

1 : Pour des valeurs très comparables de production primaire et de respiration totale

2 : UFC sur milieu salé (marine agar)

3 : UFC sur milieu doux (nutriment agar)

Tableau 6.1a : Variabilité temporelle. Coefficients de variation des principaux paramètres étudiés.

	24h Abou surface ^a	24h Biétri surface ^a	24h Mopoyem surface ^a	24h 3 baies surface ^a	1 mois Biétri couche euphotique ^b	1 mois période de épilimnion ^b	1 mois de stratification hypolimnion ^b	stratifié/ déstratifié Biétri Intégrale 0-10m ^c
Abondance bactérienne								
Totale	16	7	18	13	32	38	53	33
Libre	16	9	9	11	nd	nd	nd	nd
Fixée	58	37	22	39	nd	nd	nd	nd
% Fixée	48	31	22	34	nd	nd	nd	nd
Volume cellulaire	8	7	8	8	15	15	4	-
Incorporation de thymidine								
Totale	31	20	21	24	31	37	63	ns
Libre	32	24	21	25	nd	nd	nd	nd
Fixée	58	26	42	40	nd	nd	nd	nd
% Fixée	56	21	32	36	nd	nd	nd	nd
Activité spécifique par cellule								
Totale	25	21	23	25	21	28	56	-
Libre	28	25	26	28	nd	nd	nd	-
Fixée	52	38	36	52	nd	nd	nd	-
Facteur de conversion								
	30	18		24	nd	nd	nd	nd
Prédation								
	11	8	9	9	nd	nd	nd	nd
Phytoplancton								
Chl. <u>a</u>	25	34	29	30	26	41	94	ns
Pigments	16	17	13	15	31	41	84	ns
Autres paramètres								
Resp.	49	23	25	31	nd	nd	nd	nd
Cp	17	10	7	11	25	35	66	ns
Np	29	31	34	31	23	32	56	ns

^a : cf. Chap. 3 cycles - abondance, thymidine, activité spécifique, Chl. a, Cp, Np: 9 à 12 points par cycle, 3 à 4 cycles par baie, Facteur de conversion 2 points par cycle (A1, B1, B2), Prédation 2 fois par cycle (A1, B1, B2, M1), Resp. respiration : 6 à 9 points par cycle ; ^b : cf. Chap. 5 déstratification - 11 profils en période stratifiée, 3 profils en période déstratifiée ; ^c : % de diminution lors du passage en période déstratifiée ; ns : différence non significative entre périodes stratifiée et déstratifiée ; nd : paramètre non déterminé

Tableau 6.1b : Variabilité temporelle. Coefficients de variation des principaux paramètres étudiés.

	----- SAISONS SURFACE ^a -----				----- SAISONS INTEGRALES ^b -----			
	Abou	Biétri	Mopoyem	3 bales	Abou	Biétri	Mopoyem	3 bales
Abondance bactérienne								
Totale	14	23	16	17	40	32	31	34
Libre	26	35	23	28	43	32	32	36
Fixée	45	19	47	37	80	48	49	59
% Fixée	66	33	52	50	68	27	35	43
Volume cellulaire	9	4	10	8	nd	nd	nd	
Incorporation de thymidine								
Totale	37	31	11	26	31	25	19	25
Libre	41	44	11	32	37	17	25	26
Fixée	58	25	28	37	63	49	32	48
% Fixée	53	37	42	44	51	29	34	38
Activité spécifique par cellule								
Totale	41	10	1	17	-	-	-	-
Libre	32	16	8	19	-	-	-	-
Fixée	48	25	16	29	-	-	-	-
Facteur de conversion								
	30	12	21	21	-	-	-	-
Prédation								
	72	8	30	37	nd	nd	nd	nd
Phytoplancton								
Chl. <u>a</u>	31	31	52	38	57	33	74	55
Pigments	16	30	28	25	38	24	58	40
Autres paramètres								
Resp.	47	9	29	28	78	33	29	47
Cp	34	31	9	24	nd	nd	nd	nd
Np	32	23	42	32	nd	nd	nd	nd

a : Chap. 3 cycles ; coefficient de variation des moyennes par saison (moyennes journalières) ; b : cf. Chap. 4 profils ; coefficient de variation des intégrales par m² ; nd : paramètre non déterminé

Tableau 6.2 : Variabilité spatiale. Coefficients de variation des principaux paramètres étudiés.

	VARIABILITE HORIZONTALE		VARIABILITE VERTICALE				VARIABILITE VERTICALE	
	toutes	saisons	toutes	saisons	saisons	profils	saison	d'été
	eaux de surface ^a	intégrales 0-3 m ^b	profils 0-3 m ^b	% de baisse euphotique et aphotique ^c	entre couches oxygénée et anoxique ^c			
	3 baies	3 baies	Abou	Biétri	Mopoyem	3 baies	Biétri	Biétri
Abondance bactérienne								
Totale	65	60	12	13	8	11	18	72
Libre	57	51	12	12	9	11	19	nd
Fixée	89	98	55	31	76	54	14	nd
% fixé	28	39	49	23	46	39	ns	nd
Volume Cellulaire	12	nd	nd	16 ^c	nd	16	nd	-25 ^d
Incorporation de thymidine								
Totale	77	73	17	25	17	20	27	84
Libre	69	64	19	26	20	21	27	nd
Fixée	111	103	35	33	34	34	24	nd
% fixée	41	28	35	20	30	28	ns	nd
Activité spécifique par cellule								
Totale	19	-	17	15	16	16	ns	56
Libre	20	-	17	16	18	17	ns	nd
Fixée	26	-	63	25	47	45	ns	nd
Facteur de conversion								
	10	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Prédation								
	24	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Phytoplancton								
Chl. a	66	46	41	24	35	33	32	86
Pigments	77	40	19	22	16	19	30	76
Autres paramètres								
Resp.	76	71	25	52	40	39	45	(ETS:75)
Cp	65	nd	nd	nd	nd	nd	nd	85
Np	71	nd	nd	nd	nd	nd	nd	87

^a : cf. chap. 3 cycles ; ^b : cf. chap. 4 profils ; ^c : cf. chap. 5 déstratification ; ^d : augmentation de 25% du volume cellulaire moyen ; nd : non déterminé ; ns : différence non significative

Contrôle de la biomasse bactérienne

L'importance du rôle des bactéries dans la chaîne trophique dépend largement du contrôle de la biomasse bactérienne. Ce contrôle peut avoir deux origines non exclusives : la disponibilité nutritive et les exportations. Ces deux facteurs peuvent intervenir distinctement sur les composantes libres et fixées d'une même microflore. Cette étude a montré que le devenir des composantes libres et fixées était différent.

- Dans les sites étudiés, le flux de sédimentation peut apparemment contrôler la production de biomasse bactérienne fixée dans la colonne d'eau. Il n'est donc *a priori* pas nécessaire de faire intervenir la prédation pour expliquer les sorties de biomasse bactérienne des communautés fixées. Cette vision est toutefois simpliste car - d'une part les échanges entre communautés libres et fixées n'ont pu être abordés au cours de cette étude - d'autre part, la prédation sélective par certains flagellés (Caron, 1987) et ciliés (Allbright *et al.* 1987) sur les communautés fixées a déjà été montrée - et enfin, les particules elles-mêmes peuvent être consommées par le zooplancton notamment dans le bas de la colonne d'eau. A ce niveau, l'activité de broutage d'*Acartia*, le genre dominant en lagune Ebrié (Pagano & Saint-Jean, 1988), atteint son maximum. Au cours des expérimentations effectuées, la consommation de particules par le zooplancton n'a pas été déterminée. Il n'a donc pas été possible de distinguer la biomasse bactérienne exportée par le seul processus physique de sédimentation, de celle ingérée par le zooplancton et dont l'égestion (pour une partie) dans les fèces ne fait qu'accélérer le flux de sédimentation. Une approche complémentaire intéressante consisterait à étudier les rythmes de sédimentation jour/nuit car les fèces du zooplancton ont une vitesse de sédimentation élevée et sont produits essentiellement de nuit (Pagano & Saint-Jean, 1988). Enfin, rappelons que cette exportation n'est peut-être que temporaire. La remise en suspension périodique du dépôt sédimentaire superficiel réintroduit probablement dans la chaîne trophique pélagique une part importante de la biomasse exportée verticalement.

La production de biomasse par les communautés fixées n'est toutefois pas un phénomène majeur dans le milieu lagunaire. Elle n'atteint qu'exceptionnellement 80% de la production totale à la base de la colonne d'eau de certaines zones relativement profondes de la lagune (Abou-Abou, voir chap.4). Dans la colonne 0-3 m, plus représentative des conditions lagunaires moyennes, la production bactérienne fixée n'atteint au maximum que 30-35% de la production totale, pourcentage obtenu en Baie de Biétri, le site le plus eutrophe de la lagune. Aux autres sites étudiés, elle est toujours inférieure à 20%. Cette proportion est faible en regard de la concentration en matériel particulaire. Elle s'explique en partie par l'activité spécifique des communautés fixées similaire à celle des communautés libres (voire même inférieure en saison des crues). Cette relativement faible activité des communautés fixées pourrait s'expliquer - d'une part, par l'origine essentiellement terrigène des particules dans le milieu lagunaire colonisées par des bactéries peu adaptées aux conditions du milieu lagunaire - d'autre part, par le temps de résidence élevé des particules dont la concentration dans la colonne d'eau doit être étroitement dépendante des remises en suspension périodiques du dépôt sédimentaire superficiel induites par les vents diurnes.

En raison de la faible proportion des activités fixées, l'exportation de biomasse bactérienne par sédimentation ne représente donc au plus que 20 à 30% de la production bactérienne totale aux trois sites étudiés.

- Les expérimentations réalisées en employant des inhibiteurs bactériens montrent que la biomasse produite par les communautés libres est assez efficacement consommée par le nanoplancton hétérotrophe. Ce broutage élimine, en moyenne, 80% de la production de biomasse bactérienne en surface. La prédation apparaît donc comme la source de disparition majeure de la biomasse bactérienne produite. Rappelons que les biomasses bactériennes élevées, notamment en baie de Biétri (de l'ordre de $2 \cdot 10^{10}$ cellules l⁻¹), autoriseraient en principe la prédation par les organismes bactériophages (virus et bactéries, cf Heldal & Bratbak, 1991 ; Shilo, 1984).

Plusieurs arguments convergents suggèrent, qu'aux sites étudiés, la production de biomasse bactérienne libre est limitée par la prédation plutôt que par la disponibilité nutritive :

- Les mesures directes au moyen d'antibiotiques (en flacons de faibles volumes) montrent que la consommation par les eucaryotes représente en moyenne 80% de la production de biomasse. De plus, dans les contrôles effectués sans antibiotique, la biomasse et la production bactérienne apparaissent généralement stables. Il semble donc y avoir un couplage étroit à l'échelle de temps (12-24 h) et de volume (500 ml) considérée.

- Le contrôle exclusif de la biomasse bactérienne par les effectifs de flagellés hétérotrophes dénombrés impliquerait un taux d'ingestion de l'ordre de 3 bactéries par flagellé et par heure. Cette valeur se situe dans les valeurs basses de la gamme reportée dans la littérature. Le contrôle de la biomasse bactérienne par les seuls flagellés hétérotrophes apparaît donc possible en lagune Ebrié.

- Au cours des cycles nycthémeraux étudiés, les effectifs bactériens montrent des fluctuations plus faibles que leurs activités de production, ce qui suggère un couplage étroit dans la même échelle de temps (<12 h).

- Les taux de croissance bactériens sont élevés, correspondant à des temps de renouvellement de la biomasse bactérienne de l'ordre de 10-15 h. Dans la plupart des milieux étudiés, les temps de renouvellement sont de l'ordre de 24 h ou même supérieurs. Le taux de croissance relativement élevé des assemblages bactériens lagunaires est compatible avec l'absence de limitation nutritive.

- L'efficacité de croissance, estimée à partir des comparaisons entre consommation d'oxygène et production bactérienne, est de l'ordre de 50-60%. Une efficacité de croissance aussi élevée nécessite l'utilisation préférentielle de substrats riches, et suggère donc que ceux-ci ne sont pas limitants.

- L'activité cellulaire spécifique des communautés libres est supérieure, ou au moins égale, à celle des communautés fixées. Ce phénomène observé dans les eaux peu profondes, qui constituent l'essentiel des eaux lagunaires, suggère, selon Unanue *et al.* (1990) et Jeffrey & Paul (1988), que les sources nutritives ne sont pas limitantes (cf. chap.3).

• Alors que l'abondance et la productivité des communautés bactériennes observées ici sont parmi les plus élevées reportées dans la littérature, les volumes bactériens moyens se situent dans la gamme de valeurs couramment reportée pour des milieux eutrophes. Dans une série d'écosystèmes où la biomasse bactérienne apparaît contrôlée par les ressources nutritives ("Bottom up") plutôt que par la prédation ("Top down"), Billen *et al.* (1990) montrent un fort accroissement du volume cellulaire moyen avec l'augmentation de la production de biomasse bactérienne. Ainsi, pour des valeurs de production bactérienne comparables à celles estimées en lagune Ebrié au cours de cette étude ($9-28 \mu\text{gC l}^{-1}\text{h}^{-1}$), les auteurs reportent des volumes bactériens moyens de 0.3 à $1.8 \mu\text{m}^3$, largement supérieurs à la gamme $0.09-0.15 \mu\text{m}^3$ déterminée en lagune. La prédation par le nanoplancton hétérotrophe s'exerce souvent sélectivement sur les organismes bactériens les plus gros (Andersson *et al.* 1986 ; Newell & Turley, 1987 ; Chrzanowski & Simek, 1990 ; Gonzalez *et al.* 1990). Le maintien d'un volume cellulaire moyen peu élevé, associé à une forte productivité bactérienne, plaide pour un contrôle actif de la biomasse bactérienne par la prédation dans le milieu lagunaire.

Importance des processus bactériens dans les flux de carbone

Aux trois sites étudiés, les valeurs de production bactérienne par unité de surface montrent des valeurs élevées, représentant en moyenne 58% de la production primaire nette déterminée au cours de cette étude. L'activité hétérotrophe bactérienne représente donc environ 100% de la production primaire nette en admettant une efficacité de croissance de 55%. Un tel rapport suggère que les bactéries hétérotrophes interviennent de manière extrêmement significative dans le cycle du carbone aux trois sites étudiés.

De manière évidente, la lagune Ebrié doit une large part de sa richesse aux apports de matière organique d'origine allochtone (terrigènes : véhiculés par les eaux de ruissellement et les fleuves, fluviaux et anthropiques : effluents urbains et agro-industriels). Il est donc intéressant de tenter d'établir si une activité bactérienne hétérotrophe aussi élevée par rapport à la production primaire implique des apports allochtones de matière organique. Dans la pratique, l'établissement d'un tel bilan est toutefois fortement limité, et ceci principalement pour trois raisons :

(1) - Cette proportion apparaît variable sur les profils où productions primaire et bactérienne ont été déterminées simultanément. Ces variations ($\sigma = 34\%$) sont essentiellement dues à des variations importantes de la production primaire telle que nous l'avons déterminée. Le tableau 6.3 montre les valeurs de production primaire déterminées au cours des études qui se sont succédées en lagune Ebrié. Les valeurs obtenues en baies d'Abou-Abou et de Mopoyem sont comparables à celles déterminées au cours de cette étude. On peut considérer que la production primaire nette est en moyenne annuelle de l'ordre de $0,7 - 1,0 \text{ g Cm}^{-2}\text{j}^{-1}$ en baie d'Abou-Abou et de $1 - 1,5 \text{ gC m}^{-2}\text{j}^{-1}$ en baie de Mopoyem. Par contre, on ne peut que constater l'accroissement continu de la production primaire

déterminée en baie de Biétri lié à l'accroissement des rejets urbains au cours de la même période ⁴. La production primaire nette dans cette baie est actuellement de l'ordre de 3 - 3.5 gC m⁻²j⁻¹. Sur cette base, et en supposant que les données de production bactérienne peuvent être extrapolées à l'année, on peut estimer que la production de biomasse bactérienne représente en réalité respectivement 60-90%, 60-70% et 40-60% de la production primaire nette, en baies d'Abou-Abou, Biétri et Mopoyem.

Tableau 6.3 : Production primaire aux 3 sites étudiés déterminée au cours de différentes études.

année	saison	Abou -Abou	Biétri	Mopoyem	production ^a	source
1975	sèche	4.67	3.59	4.34	brute gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Dufour, 1984 ^b
1975	pluie	2.78	4.38	6.49	brute gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Dufour, 1984
1975	crues	2.42	3.48	3.61	brute gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Dufour, 1984
1975	année	3.29	3.82	4.81	brute gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Dufour, 1984
1975	année	1.97	2.29	2.89	nette gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Dufour, 1984
1975	année	0.62	0.72	0.90	nette gC m ⁻² j ⁻¹	Dufour, 1984
1981	année	3.71	7.74		brute gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Carmouze & Caumette, 1985 ^c
1981	année	2.22	4.64		nette gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Carmouze & Caumette, 1985
1981	année	0.69	1.45		nette gC m ⁻² j ⁻¹	Carmouze & Caumette, 1985
1987	sèche		16.83		brute gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Torréton <i>et al.</i> 1989 ^d
1987	sèche		10.10		nette gO ₂ m ⁻² j ⁻¹	Torréton <i>et al.</i> 1989
1987	sèche		3.16		nette gC m ⁻² j ⁻¹	Torréton <i>et al.</i> 1989
1989	sèche			3.69	brute gC m ⁻² j ⁻¹	cette étude
1989	pluie	1.11	4.91	2.04	brute gC m ⁻² j ⁻¹	cette étude
1989	crues	2.31	6.86	2.62	brute gC m ⁻² j ⁻¹	cette étude
1989	moyenne	1.71	5.89	2.78	brute gC m ⁻² j ⁻¹	cette étude
1989	moyenne	1.03	3.53	1.67	nette gC m ⁻² j ⁻¹	cette étude

^a : production nette = production brute x 0,6 (respiration = 40% de production brute)
 et production en gC = production en gO₂/32*12/1,2 (QP=1,2) ; ^b : Moyenne des stations 43 et 44 (Abou-Abou) ; 16, 17 et 18 (Mopoyem) ; station 37 à Biétri ; ^c : Moyenne de 9 profils sur l'année ; ^d : déterminée par S. Bambara, moyenne pendant la période stratifiée (janvier 1987)

(2) - Même si les fluctuations de l'incorporation de thymidine apparaissent modérées pour chaque site étudié, l'interprétation des mesures d'incorporation de thymidine en terme de production bactérienne est encore d'une précision limitée. Les valeurs estimées de production bactérienne se situent probablement dans un facteur 2 des vraies valeurs lorsque l'on cumule les incertitudes sur les facteurs de conversion (25%, cf chap.2), l'extrapolation à la journée d'une mesure ponctuelle (24%, tab. 6.1a) et les variations d'un profil à l'autre (25%, tab. 6.1b) sur un même site. Cette imprécision, en

⁴ : la chlorophylle a augmente dans des proportions comparables

elle-même, suffisante pour inciter à la plus grande prudence, ne doit toutefois pas être considérée comme rédhibitoire pour l'étude d'un processus biologique.

(3) - Enfin, on sait que le recyclage continu du carbone à chaque étape de prédation autorise théoriquement des activités hétérotrophes excédant les entrées totales de carbone dans les écosystèmes à forte rétention (Scavia, 1988 ; Strayer, 1988). Il convient donc de définir si les sites étudiés en lagune Ebrié sont des écosystèmes à forte rétention. D'après Dufour (1984), les régions fermées du système lagunaire (V, VI, et Aghien) ont un faible taux de renouvellement des eaux et n'exportent donc qu'une part négligeable de leur production. La baie de Mopoyem se situe en région V. La baie d'Abou-Abou se situe en région III mais sa configuration particulière (communication par un seuil étroit et peu profond) limite considérablement les échanges hydriques avec le reste de la zone estuarienne (Tastet & Guiral, 1991). Située en zone II "urbaine", la baie de Biétri, dont le bilan hydrique est mieux connu, présente un taux de renouvellement moyen des eaux de 0.05 à 0.35 j⁻¹ en saison sèche (respectivement en période de morte-eau et de vive-eau, Arfi & Guiral 1991) significatif comparé à celui de la biomasse phytoplanctonique que l'on peut estimer à 0.5-0.9 j⁻¹ 5. En terme d'exportation latérale, parmi les trois sites étudiés, seule la baie de Biétri est susceptible d'exporter une part conséquente de sa production primaire, les deux autres baies doivent plutôt être considérées comme des écosystèmes à forte rétention. En un site donné, la production peut également être exportée verticalement. Aux trois sites étudiés, une part importante de la production phytoplanctonique est exportée par sédimentation. Les mesures directes montrent que cette proportion est importante (10 à 122 %, moyenne des 13 cycles 36%, cf. chap.3), mais, comme pour le bactérioplancton, il est difficile d'affirmer que cette exportation est définitive. Dans ce milieu peu profond les remises en suspension périodiques du sédiment superficiel par l'hydrodynamisme engendré par le vent et les marées réintroduit cette matière organique dans la colonne d'eau (Tastet & Guiral, 1991). Celle-ci peut alors réintégrer la chaîne trophique pélagique par l'intermédiaire des bactéries (Wainright 1987, 1990). En terme d'exportation vers le sédiment on peut probablement conclure à une forte rétention dans les trois sites étudiés.

En termes quantitatifs, ces trois raisons excluent donc une conclusion nette impliquant la nécessité d'invoquer des apports allochtones pour soutenir la demande hétérotrophe bactérienne aux sites étudiés, à l'exception de la Baie de Biétri. L'importance de ces apports n'est d'ailleurs plus à démontrer dans cette baie eutrophisée par l'activité humaine (Arfi & Guiral, 1991).

Toutefois, la relative constance des activités bactériennes comparée aux variations plus importantes de la production primaire suggère également que les processus bactériens ne dépendent pas directement de la production autotrophe. Dans les milieux lagunaires, les bactéries hétérotrophes constituent en effet les intermédiaires obligatoires entre la matière organique allochtone et la chaîne trophique lagunaire.

5 : avec $P/B = (3 \text{ à } 3.5 \text{ gCm}^{-2}\text{j}^{-1}) / (4 \text{ à } 6 \text{ gCm}^{-2})$ - voir chap. 4 et 5 pour la biomasse phytoplanctonique en baie de Biétri. Pagès & Lemasson (1981) reportent 0.9-1.2 j⁻¹ en zone estuarienne avec la même méthode

Importance probable en tant que producteurs de biomasse

Les communautés bactériennes jouent donc un rôle non négligeable dans le flux global de matière et d'énergie aux sites étudiés de la lagune Ebrié. Elles semblent essentiellement contrôlées par la prédation et de ce fait, la biomasse bactérienne produite doit franchir efficacement la première étape conduisant vers les niveaux supérieurs de la chaîne trophique. Les consommateurs de cette biomasse bactérienne produite en lagune Ebrié n'ont pas été directement identifiés. Cependant plusieurs arguments suggèrent qu'il s'agit principalement des flagellés hétérotrophes, très abondants aux sites étudiés (cf chap.4). Dans certains milieux estuariens, les ciliés peuvent consommer l'essentiel de la production bactérienne (Sherr & Sherr, 1987). Ces derniers sont également très abondants aux trois sites étudiés mais apparaissent dominés par les oligotriches (genre *Strombidium*) consommant préférentiellement les flagellés (Bernard & Rassoulzadegan, 1990). La faible proportion des activités attribuables aux communautés bactériennes fixées permet d'exclure un transfert efficace de la biomasse bactérienne totale vers l'essentiel des organismes zooplanctoniques. Au sein du zooplancton lagunaire, seuls les rotifères sont susceptibles de consommer les bactéries libres ⁶, représentant l'essentiel de la production de biomasse bactérienne. Toutefois, même dans un bassin d'aquaculture proche de Mopoyem, où les rotifères peuvent montrer, dans certaines conditions expérimentales, des effectifs considérablement plus élevés qu'aux sites lagunaires étudiés, ils n'apparaissent pas consommer plus de 30% de la production bactérienne (Bouvy *et al.* soumis). Ces arguments suggèrent qu'au moins trois étapes de prédation sont nécessaires avant que la biomasse bactérienne produite n'arrive au zooplancton (bactéries → flagellés → ciliés → zooplancton). En supposant un rendement de 40% à chaque étape de prédation (une valeur probablement surévaluée), au plus 6.4% de la production initiale de biomasse bactérienne parviendrait au zooplancton. Le flux de carbone serait alors équivalent à 2.6-5.8% de la production primaire nette ⁷. L'incidence finale des fortes productions de biomasse bactérienne sur la production terminale est donc probablement minime. Cette incidence finale, qui dépend étroitement du nombre d'étapes de prédation et du rendement à chaque étape, nécessite une approche multidisciplinaire et devrait constituer un axe de recherches essentiel dans l'étude de l'écosystème lagunaire Ebrié. A cet égard, l'approche directe de Ducklow *et al.* 1986, consistant à marquer au ¹⁴C-glucose la communauté bactérienne hétérotrophe dans un mésocosme et à suivre l'apparition du marquage jusqu'aux organismes supérieurs serait parfaitement applicable dans le milieu lagunaire.

Dans l'état actuel des connaissances, le rôle le plus important des bactéries hétérotrophes en lagune Ebrié concerne donc probablement leur activité minéralisatrice. Les fortes activités hétérotrophes estimées en lagune Ebrié montrent leur importance dans le recyclage de la matière organique issue à la fois des fortes productions autochtones et des apports allochtones d'origine naturelle ou humaine.

⁶ : Caumette *et al.* 1983 ont toutefois montré que dans certaines situations particulières, *Acartia* pouvait consommer une part importante des bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes d'un volume cellulaire moyen élevé

⁷ : en considérant que la production bactérienne nette représente 40 à 90% de la production primaire nette cf tab. 6.4

Tableau 6.4 : Biomasse et production bactérienne mesurée par la thymidine (dans le TCA précipité) dans quelques écosystèmes lotiques et estuariens eutrophes.

Site	Temp. °C	Abondance totale 10 ⁹ cell/l	Volume moyen µm ³ /cell	Incorp. de thym. pmol/h	Fact.Conv. 10 ¹⁸ cell /mole	Prod. bact.(PB) µgC/h	Act.Spéc. 10 ⁻²¹ mol /cell/h	Taux de croissance j ⁻¹	Conc.Tdr utilisée nM	Chl.a µg/l	(PP) Prod. primaire gC/m ² j	PB/ PP %	Référence
Meuse, Belgique		1-5	0.3-1.8		0.5	<1->5		0.17-2.4	20		1.35-1.50	14-28 ϵ	Servais, 1989
Lac Norvikken Suède (épiplmion)	15-22	1-2.4	0.185	12-200	1.9-2.2	0.2-7.1	8-160	0.19-7.0	5	7-36	0.09-0.29	50%	Bell <i>et al.</i> (1983)
Lac Biwa, Japon (colonne d'eau)	12-28	1-10	0.161	1-100	3-24	0.2-2.5	1.5-18		5	1-11		30%	Nagata (1986, 1987)
Little Crooked lake Indiana (colonne d'eau)	8-30	1.7-6.3	0.120	<9-100	2.2	0.4-2.1	1.1-37.5	0.06-2.0	2.22			45%	Lovell & Konopka (1985)
Lac Oglethorpe (colonne d'eau)	10-25	5-16		1-40 a					5		0.3-0.6		Mc Donough <i>et al.</i> (1986)
Frederiksborg Slotsso, Danemark	6-7.5	8.6-17.9	(0.045) h		2.1 ^b	0.07-0.22	0.54-0.75	0.02-0.10	10-25	6-71	0.2-0.9 ^c	0.6-7.3%	Riemann <i>et al.</i> (1982)
Lac Erken, Suède (1-5m) bloom printanier	2-6	0.5-1.5	0.083	(2.92)	1.6-2.9	0.05-0.07			10	5-23	0.03-3.2 ^c	20% ^d	Bell & Kuparinen (1984)
Lac Hylka, Danemark (étés)					1.7 ^e	0.7-5.7							Schwaerter <i>et al.</i> (1988)
Barrage de l'Haribespoort, Afrique du Sud	21	5-15		15-78 ^f							0.1-1.6 ^g		Roberts <i>et al.</i> (1986)
Est. de la Rhode River, Maryland (surface)		0.3-54 (7.3) h	0.060	0.9-1600 (260)	0.2-8 ^e	(0.26-10.8)		0.26-1.7	1	0.5-245 (42)			Rublee <i>et al.</i> (1982)
Estuaire de la York River, Virginie (colonne d'eau)	25	1-8	0.074	42-420	0.35	0.29-3.13	8-63	0.2-1.1	5				Ducklow (1982)
Tampa bay, Floride	15-33	0.9-4.9		20-412			27-66		5	4-62			Paul <i>et al.</i> (1988)
Oosterschelde basin, Pays-Bas	15-21	45-120 ⁱ			2.1 ^j	0.4-4			5		0.3-1.0		Laanbroek & Verplanke (1986)
Roskilde Fjord Danemark	5-17	5-11	(0.063)	60-240	1.1 ^k	1.5-5.8		0.24-0.55	7.8	7-40	0.03-0.17 ^l		Jensen <i>et al.</i> (1990)
Estuaire Sapelo Island, Georgia (surface)	28-30	2-8		50-160	1.18 ^m	1.2-3.8			5				Griffith <i>et al.</i> (1990)
Abou-Abou (0-3m) n	29-31	9.4	0.108	0.59 ^o	0.74 ^p	8.8	70	1.04	20	18	0.7-1.0 ^q	60-90	Cette étude
Blétri (0-3m)	29-31	22.1	0.127	1.86	0.74	27.6	101	1.18	20	49	3.0-3.5 ^q	60-70	Cette étude
Mopoyem (0-3m)	29-31	8.0	0.101	0.58	0.74	8.6	82	1.27	20	28	1.0-1.5 ^q	40-60	Cette étude

a : à partir de l'incorporation dans l'ADN (acide-base) ; b : de Fuhrman & Azam, 1982. Corrigé de la dilution isotopique et du % dans l'ADN ; c : gC m⁻³d⁻¹ ; d : production bactérienne brute (production + respiration)/production primaire ; e : de Fuhrman & Azam, 1982 ; f : < 4 à 33 pmol.l⁻¹h⁻¹ dans l'ADN ; g : gC m⁻²h⁻¹ ; h : dans tout le tableau, les parenthèses indiquent les valeurs moyennes ; i : µgC l⁻¹ en utilisant 0.56 pgC/µm³ ; j : de Fuhrman & Azam, 1982 avec 0.56 pgC/µm³ ; k : de Riemann *et al.*, 1987 avec 0.063 µm³/cellule et 0.35 pgC/µm³ ; l : gC/m³h à saturation lumineuse ; m : de Riemann *et al.*, 1987 avec 20 lgC/cellule ; n : moyennes sur les profils de 0 à 3m (chap.4) sauf pour les volumes moyens (surface, chap. 3) ; o : dans le TCA précipité (20% en moyenne dans l'ADN) ; p : moyenne utilisée pour les 3 sites (chap.2) ; q : valeurs moyennes pour chaque site (voir tableau 6.3) ; r : en moyenne annuelle. Activité hétérotrophe 47 (station W) à 94% (station H) avec une efficacité de croissance de 0.3.

En terme de biomasse et de production bactériennes, les sites étudiés en lagune Ebré apparaissent parmi les biotopes les plus riches et les plus actifs étudiés jusqu'à présent. Le tableau 6.4 ⁸ montre l'éventail des valeurs de production de biomasse bactérienne déterminées par l'incorporation de thymidine (dans le TCA précipité) dans différents milieux eutrophes lacustres et estuariens. La plupart des études reportent des activités inférieures à celles déterminées en lagune Ebré. Par contre, l'écart entre les valeurs de biomasse bactérienne est systématiquement moins important. De ce fait, les activités spécifiques cellulaires sont beaucoup plus élevées en lagune que dans la plupart des autres milieux. Les communautés microbiennes hétérotrophes de la lagune Ebré apparaissent, en effet, parmi les plus actives reportées dans la littérature avec des taux de renouvellement de la biomasse inférieurs à la journée.

Les milieux estuariens (lagunes côtières et estuaires) représentent 13% du linéaire côtier à l'échelle mondiale (Larras, 1964). Sites privilégiés d'implantation des activités humaines, ils présentent souvent une importance économique considérable. Généralement eutrophes, par leur situation à la frontière des domaines marin et continental, et souvent pollués par l'activité humaine, ils se caractérisent par un rôle accru des communautés bactériennes tant dans le recyclage des fortes productions primaires que dans la biodégradation de la matière organique allochtone et des déchets d'origine anthropique. L'écologie microbienne est donc essentielle dans l'appréciation des flux de matière et d'énergie et des cycles géochimiques des milieux estuariens. Elle est, on le voit, indissociable d'un réel effort méthodologique chaque fois qu'un nouveau milieu est abordé.

Les communautés bactériennes hétérotrophes participent au cycle du carbone à toutes les étapes de la chaîne trophique. Il apparaît donc évident que l'incidence finale des fortes activités bactériennes dans le fonctionnement global de l'écosystème ne peut être évaluée que si ces estimations sont intégrées dans des programmes réellement multidisciplinaires incluant l'étude des principaux organismes constitutifs de la chaîne trophique.

⁸ : voir également figures 4.6 et 4.7 au chapitre profils

REFERENCES CITEES

- ALLBRIGHT, L.J., McCRAE, S.K., MAY, B.E. (1986). Attached and free-floating bacterioplankton in Howe Sound British Columbia, a coastal marine fjord-embayment. *Appl. Environ. Microbiol.* 51 : 614-621
- ANDERSSON, A., LARSSON, U., HAGSTROM, A. (1986). Size-selective grazing by a microflagellate on pelagic bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 33 : 51-57
- ANDERSSON, A.C., LEE, F., AZAM, F., HAGSTROM, A. (1985). Release of amino-acids and inorganic nutrients by heterotrophic marine microflagellates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 23 : 99-106
- ARFI, R., DUFOUR, P., MAURER, D. (1981). Phytoplankton et pollution : premières études en baie de Biétri (Côte d'Ivoire). Traitement mathématique des données. *Oceanol. Acta.* 4 : 319-329
- ARFI, R., GUIRAL, D. (1991). Un écosystème estuarien eutrophe : la baie de Biétri. In *Environnement et ressources aquatiques de Côte d'Ivoire. 2 - Le milieu lagunaire.* (Durand, J.-R., Dufour, P., Zabi, S., eds.) sous presse
- ARFI, R., GUIRAL, D., TORRETON, J.-P. (1989). Cycle hydrologique annuel d'une baie eutrophe : la baie de Biétri (lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). 1 - Cycle hydrologique annuel. *Revue d'Hydrobiologie Tropicale* 22 : 263-273
- AZAM, F. FUHRMAN, J. (1984). Measurement of bacterioplankton growth in the sea and its regulation by environmental conditions in : *Heterotrophic Activity in the Sea* (Hobbie, J.E., Williams, P.J.leB. eds). pp.179-196, Plenum Press, New-York
- AZAM, F., FENCHEL, T., FIELD, J.G., GRAY, J.S., MEYER-REIL, L.A.,THINGSTAD, F. (1983). The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 10 : 257-263
- BEARDALL, J., RAVEN, J.A. (1990). Pathways and mechanisms of respiration in microalgae. *Marine Microbial Food Webs*, 4 : 7-30
- BELL, C.R., ALLBRIGHT, L.J. (1981). Attached and free-floating bacteria in the Fraser River Estuary, British Columbia, Canada. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 6 : 317-327
- BELL, C.R., ALLBRIGHT, L.J. (1982). Attached and free-floating bacteria in a diverse selection of water bodies. *Appl. Environ. Microbiol.* 43 : 1227-1237
- BELL, R.T., AHLGREN I. (1987). Thymidine incorporation and microbial respiration in the surface sediment of a hypereutrophic lake. *Limnol. Oceanogr.* 32 : 476-482
- BELL, R.T. (1986). Further verification of the isotope dilution approach for estimating the degree of participation of ³H-thymidine in DNA synthesis in studies of aquatic bacterial production. *Appl. Environ. Microbiol.*, 52 : 1212-1214.
- BELL, R.T. (1988). Thymidine incorporation and estimates of bacterioplankton production : are the conversion factors valid? *Arch. Hydrobiol. Beih.* 31 : 163-171
- BELL, R.T. (1990). An explanation for the variability in the conversion factor deriving bacterial cell production from incorporation of [³H]thymidine. *Limnol. Oceanogr.* 35 : 910-915
- BELL, R.T., AHLGREN, G.M., AHLGREN, I. (1983). Estimating bacterioplankton production by measuring ³H-Thymidine incorporation in a eutrophic Swedish lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 45 : 1709-1721.
- BELL, R.T., KUPARINEN, J. (1984). Assessing phytoplankton and bacterioplankton production during early spring in Lake Erken, Sweden. *Appl. Environ. Microbiol.* 48 : 1221-1230
- BELL, R.T., RIEMANN, B. (1989). Adenine incorporation into DNA as a measure of bacterial production in freshwaters. *Limnol. Oceanogr.* 34 : 435-444
- BENT, E.J., GOULDER, R. (1981). Planktonic bacteria in the Humber Estuary : seasonal variation in population density and heterotrophic activity. *Mar. Biol.* 62 : 35-45
- BERGH, O., BORSHEIM, K.Y., BRATBAK, G., HELDAL, M. (1990). High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* 340 : 467-468
- BERN, L. (1985). Autoradiographic studies of [*methyl-³H]thymidine incorporation in a cyanobacterium (*Microcystis wessenbergii*)-Bacterium association and in selected algae and bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 49 : 232-233*

- BERNARD, C., RASSOULZADegan, F. (1990). Bacteria or microflagellates as a major food source for marine ciliates : possible implications for the microzooplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 64 : 147-155
- BILLEN, G., SERVAIS, P., BECQUEVORT, S. (1990). Dynamics of bacterioplankton in oligotrophic and eutrophic aquatic environments: bottom up or top-down control? *Hydrobiologia* 207 : 37-42
- BJORNSEN, P.K. (1988). Grazing on bacterioplankton by heterotrophic flagellates : a test of methods. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 31 : 267-274
- BJORNSEN, P.K. (1988). Phytoplankton exudation of organic matter. Why do healthy cells do it? *Limnol. Oceanogr.* 33 : 151-154
- BJORNSEN, P.K., RIEMANN, B. (1988). Towards a quantitative stage in the study of microbial processes in pelagic carbon flows. *Proceedings of the Third International workshop on the measurement of microbial activities in the carbon cycle in aquatic ecosystems. Advances in Limnology, Stuttgart* (Cappenberg, Steenbergen eds.) pp 185-193
- BJORNSEN, P.K., KUPARINEN, J. (1991). Determination of bacterioplankton biomass, net production and growth efficiency in the Southern Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 71 : 185-194
- BLOEM J., ELLENBROEK, F.M., BAR-GILISSEN M.B., CAPPENBERG T.E. (1989). Protozoan grazing and bacterial production in stratified lake Vechten estimated with fluorescently labeled bacteria and by thymidine incorporation. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 : 1787-1795.
- BOATMAN, C.D., MURRAY, J.W. (1982). Modelling exchangeable NH₄ adsorption in marine sediment : process and control of adsorption. *Limnol. Oceanogr.* 27 : 99-110
- BÖLTER, M. (1982). Submodels of a brackish water environment. II. Remineralization rates of carbohydrates and oxygen consumption by pelagic microheterotrophs. *PSZNI Mar. Ecol.* 3 : 233-241
- BORSHEIM, K.Y., BRATBAK, G. (1987). Cell volume to cell carbon conversion factors for a bacterivorous *Monas* sp enriched from sea water. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 36 : 171-175
- BORSHEIM, K.Y., BRATBAK, G., HELDAL, M. (1990). Enumeration and biomass estimation of planktonic bacteria and viruses by transmission electron microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 : 352-356
- BOUVY, M., ARFI, R., GUIRAL, D., PAGANO, M., SAINT-JEAN, L. (soumis). Zooplankton grazing on labelled natural bacteria in an eutrophic tropical pond (Ivory Coast).
- BRATBAK, G. (1985). Bacterial biovolume and biomass estimations. *Appl. Environ. Microbiol.* 49 : 1488-1493
- BRATBAK, G. (1987). Carbon flow in an experimental microbial ecosystem. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 36 : 267-276
- BRATBAK, G., HELDAL, M., NORLAND, S., THINGSTAD, T.F. (1990). Viruses as partners in spring bloom trophodynamics. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 : 1400-1405
- BRIGHT, J.J., FLETCHER, M. (1983a). Amino acid assimilation and electron transport system activity in attached and free living marine bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 45 : 808-825
- BRIGHT, J.J., FLETCHER, M. (1983b). Amino acid assimilation and respiration by attached and free living populations of a marine *Pseudomonas* sp. *Microb. Ecol.* 9 : 215-226
- BRITAIN, T., KARL D.M. (1990). Catabolism of tritiated thymidine by aquatic microbial communities and incorporation of tritium into RNA and protein. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 : 1245-1254
- BROCK, P.T. (1967). Bacterial growth rates in the sea : direct analysis by thymidine autoradiography. *Science* 155 : 81-83
- BROCK, P. T. (1971). Microbial growth rates in nature. *Bacteriol. Rev.* 35 : 39-58
- BURNEY, C.M. (1986). Diel dissolved carbohydrates accumulation in coastal water of South Florida, Bermuda and Oahu. *Est. Coast. Shelf Sci.* 23 : 197-203
- BURNEY, C.M., JOHNSON, K.M., SIEBURTH, J. Mc N. (1981). Diel Flux of Dissolved Carbohydrate in a Salt Marsh and a Simulated Estuarine Ecosystem. *Mar. Biol.* 63 : 175-187.
- CAMMEN, L. (1991). Annual bacterial production in relation to benthic microalgal production and sediment oxygen uptake in an intertidal sandflat and an intertidal mudflat. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 71 : 13-25
- CAMMEN, L.M., CORWIN, S., CHRISTENSEN, J.P. (1990). Electron transport system (ETS) activity as a measure of benthic macrofaunal metabolism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 65 : 171-182

- CARLOUGH, L.A., MEYER, J.L. (1989). Protozoans in two southeastern blackwater rivers and their importance to trophic transfer. *Limnol. Oceanogr.* 34 : 163-177
- CARMAN, K.R., DOBBS, F.C., GUCKERT, J.B. (1988). Consequences of thymidine catabolism for estimates of bacterial production : an example from a coastal marine sediment. *Limnol. Oceanogr.* 33 : 1595-1606
- CARMOUZE, J.-P., CAUMETTE, P. (1985). Les effets de la pollution organique sur les biomasses et les activités du phytoplancton et des bactéries hétérotrophes dans la lagune Ebrié (Côte d'Ivoire). *Rev. Hydrobiol. Trop.* 18 : 183-211
- CARON, D.A. (1987). Grazing of attached bacteria by heterotrophic microflagellates. *Microb. Ecol.* 13 : 203-218
- CARON, D.A., GOLDMAN, J.C. (1987). Nutrient regeneration. In *Ecology of marine protozoa*. (Capriulo, G.R., ed.) Academic Press. London.
- CAUMETTE, P. (1984). Distribution and characterization of phototrophic bacteria isolated from the water of Biétri Bay (Ebrié Lagoon, Ivory Coast). *Can. J. Microbiol.* 30 : 273-284
- CAUMETTE, P. (1985). Développement des bactéries phototrophes et des bactéries sulfatoréductrices dans des lagunes peu profondes et des lagunes stratifiées. Etude de leur rôle dans le cycle du soufre et dans la production de biomasse. Thèse de Doctorat Univ. Aix-Marseille I 325 pp.
- CAUMETTE, P., PAGANO, M., SAINT-JEAN, L. (1983). Répartition verticale du phytoplancton des bactéries et du zooplancton dans un milieu stratifié en baie de Biétri. (Lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). Relations trophiques. *Hydrobiologia* 106 : 135-148
- CAUMETTE, P., GUIRAL, D., TORRETON, J.-P. (1991). Caractérisation, biomasse et activités des communautés bactériennes en Lagune Ebrié. In *Environnement et ressources aquatiques de Côte d'Ivoire. 2 - Le milieu lagunaire*. (Durand, J.-R., Dufour, P., Zabi, S., eds.) sous presse
- CHANTRAINE, J.-M., GUIRAL, D., DJEDJE, R. (1984). Analyses physico-chimiques des eaux de la lagune Ebrié de 1979 à 1981 au cours des programmes variabilité interannuelle et baie de Biétri. *Archives Scientifiques C.R.O.* 10 : 21-71
- CHO, B.C., AZAM, F. (1988). Heterotrophic bacterioplankton production measurement by the tritiated thymidine incorporation method. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 31 : 153-162
- CHRISTENSEN, J.P., PACKARD, T.T. (1979). Respiratory electron transport activities in plankton : Comparison of methods. *Limnol. Oceanogr.* 24 : 576-583
- CHRZANOWSKI, T.H. (1988). Consequences of accounting for isotopic dilution in thymidine incorporation assays. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 1868-1870
- CHRZANOWSKI, T.H., SIMEK, K. (1990). Prey-size selection by freshwater flagellated protozoa. *Limnol. Oceanogr.* 35 : 1429-1436
- CLARKE, K.R., JOINT, I.R. (1986). Methodology for estimating numbers of free-living and attached bacteria in estuarine waters. *Appl. environ. Microbiol.* 51 : 1110-1120
- CLINE, J.D. (1969). Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnol. Oceanogr.* 14 : 454-458
- COFFIN, R.B., SHARP, J.H. (1987). Microbial trophodynamics in the Delaware Estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 41 : 253-266
- COLE, J.J., LIKENS, G.E., STRAYER, D. (1982). Photosynthetically produced dissolved organic carbon : an important carbon source for planktonic bacteria. *Limnol. Oceanogr.* 27 : 1080-1090
- COLE, J.J., FINDLAY, S., PACE, M.L. (1988). Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems : a cross-system overview. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 43 : 1-10
- COLE, J.J., CARACO, N.F., STRAYER, D.L., OCHS, C., NOLAN, S. (1989). A detailed organic carbon budget as an ecosystem-level calibration of bacterial respiration in an oligotrophic lake during midsummer. *Limnol. Oceanogr.* 34 : 286-296
- COPPING, A.E., LORENZEN, C.J. (1980). Carbon budget of a marine phytoplankton-herbivore system with carbon-14 as a tracer. *Limnol. Oceanogr.* 25 : 873-882
- COVENEY, M.F. (1982). Bacterial uptake of photosynthetic carbon from freshwater phytoplankton. *Oikos* 38 : 8-20
- COVENEY, M.F., WETZEL R.G. (1988). Experimental evaluation of conversion factors for the 3H thymidine incorporation assay of bacterial secondary productivity. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 2018-2026.

- CRISMAN, T.L., BEAVER, J.R., BAYS, J.S. (1981). Examination of the relative impact of microzooplankton and macrozooplankton on bacteria in Florida lakes. *Verh. int. Ver. Limnol.* 21 : 359-362
- CURRIE, D.J., KALFF, J. (1984). Can bacteria outcompete phytoplankton for phosphorus ? A chemostat test. *Microb. Ecol.* 10 : 205-216
- CYNAR, F.J., SIEBURTH, J.McN. (1986). Unambiguous detection and improved quantification of phagotrophy in apochlorotic nanoflagellates using fluorescent microspheres and concomitant phase contrast and epifluorescence microscopy. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 32 : 61-70
- DAVIES, J.M., WILLIAMS, P.J. LEB. (1984) : Verification of ^{14}C and O_2 derived primary organic production measurements using an enclosed ecosystem. *J. Plankton Res.* 6 : 457-474
- DAVIS, C.L. (1989). Uptake and incorporation of thymidine isolates from an upwelling environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 : 1267-1272
- DOUGLAS, D.J., NOVITSKY, J.A., FOURNIER, R.O. (1987). Micro-autoradiography-based enumeration of bacteria with estimates of thymidine-specific growth and production rates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 36 : 91-99
- DUCKLOW, H.W. (1982). Chesapeake Bay nutrient and plankton dynamics. 1. Bacterial biomass and production during spring tidal destratification in the York River, Virginia, estuary. *Limnol. Oceanogr.* 27 : 651-659
- DUCKLOW, H.W. (1984). Geographical ecology of marine bacteria: physical and biological variability at the mesoscale. In *Current perspectives in microbial ecology*. (Klug, M.J., Reddy, C.A. eds) American Society for Microbiology, Washington, DC : 22-31
- DUCKLOW, H.W., KIRCHMAN, D., ROWE, G.T. (1982). Production and vertical flux of attached bacteria in the Hudson River plume of the New-York bight as studied with floating sediment traps. *Appl. Environ. Microbiol.* 43 : 769-776
- DUCKLOW, H.W., HILL, S.M. (1985). Tritiated thymidine incorporation and the growth of heterotrophic bacteria in warm core rings. *Limnol. Oceanogr.* 30 : 260-272
- DUCKLOW, H.W., HILL, S.M., GARDNER, W.D. (1985). Bacterial growth and the decomposition of particulate organic carbon collected in sediment traps. *Cont. Shelf. Res.* 4 : 445-464
- DUCKLOW, H.W., PURDIE, D.A., WILLIAMS, P.J. LeB., DAVIES, J.M. (1986). Bacterioplankton : A sink for carbon in a coastal marine plankton community. *Science* 232 : 863-867
- DUCKLOW, H.W., HOPPE, H.G., KARRASCH, B., STIRLING, M., MEHRENS, M., QUINBY, H.L.. (1990). Bacterioplankton response to the spring phytoplankton bloom at 47N, 20W., April May, 1989. *4ième Congrès Européen d'Ecologie Microbienne*, Kiel.
- DUFOUR, P. (1982). Les frontières naturelles et humaines du système lagunaire Ebrié. Incidences sur l'hydroclimat. *Hydrobiologia* 94 : 105-120.
- DUFOUR, P. (1984). Production primaire d'une lagune tropicale (Ebrié, Côte d'Ivoire). Facteurs naturels et anthropiques. Thèse d'Etat, Univ. Paris VI, tome 1, 166p.
- DUFOUR, P., LEMASSON, L., CREMOUX, J.-L. (1981). Contrôle nutritif de la biomasse du seston dans une lagune tropicale de Côte d'Ivoire. II. Variations géographiques et saisonnières. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 51 : 269-284
- DUFOUR, P., DURAND, J.-R. (1982). La production végétale des lagunes de Côte d'Ivoire. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 15 : 209-230
- DURAND, J.-R., CHANTRAINE, J.M. (1982). L'environnement climatique des lagunes ivoiriennes. *Revue d'Hydrobiologie Tropicale* 15 : 95-113
- DURAND, J.-R., AMON, K.J.B., ECOUTIN, J.-M., GERLOTTO, F., HIE DARE, J.-P., LAE, R. (1978). Statistiques de pêche en lagune Ebrié (Côte d'Ivoire) : 1976 et 1977. *Doc. Sci. Centre Rech. Oceanog. Abidjan* 9 : 67-114
- EISMA, D. (1986). Flocculation and de-flocculation of suspended matter in estuaries. *Neth. J. Sea Res.* 20 : 183-199
- EPPLEY, R.W., HERRIGAN, S.G., FUHRMAN, J.A., BROOKS, E.R., PRICE, C.C., SELNER, K. (1981). Origin of dissolved organic matter in Southern California coastal waters : experiments on the role of zooplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 6 : 149-159
- EPPLEY, R.W., SHARP, E.H., RINGER, E.H., PERRY, M.J., HARRISSON, W.G. (1977). Nitrogen assimilation by phytoplankton and other microorganisms in the surface waters of the central North Pacific Ocean. *Mar. Biol.* 39 : 11-120

- FALLON, R.D., BOYLEN, C.W. (1990). Bacterial production in freshwater sediments : cell specific versus system measures. *Microb. Ecol.* 19 : 53-62
- FALLON, R.D., NEWELL, S.Y., HOPKINSON, C.S. (1983). Bacterial production in marine sediments : Will cell specific mesures agree with whole system metabolism? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 11 : 119-127
- FERGUSON, R.E., RUBLEE, P. (1976). Contribution of bacteria to standing crop of coastal plankton. *Limnol. Oceanogr.* 21 : 141-145
- FERGUSON, R.L., BUCKLEY, E.N., PALLUMBO, A.V. (1984). Response of marine bacterioplankton to differential filtration and confinement. *Appl. Environ. Microbiol.* 47 : 49-55
- FEUILLADE, M., DUFOUR, P., FEUILLADE, J. (1988). Organic carbon release by phytoplankton and bacterial reassimilation. *Schweiz. Z. Hydrol.* 50 : 115-135
- FINDLAY, S.E.G., MEYER, J.L., EDWARDS, R.T. (1984). Measuring bacterial production via rate of incorporation of [³H]thymidine into DNA. *J. Microb. Meth.* 2 : 57-72
- FUHRMAN, J.A. (1981). Influence of Methods on the apparent size distribution of bacterioplankton cells : epifluorescence microscopy compared to Scanning Electron Microscopy. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 5 : 103-106
- FUHRMAN, J.A., AZAM, F. (1980). Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica and California. *Appl. Environ. Microbiol.* 39 : 1085-1095
- FUHRMAN, J. A., AZAM, F. (1982). Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters : Evaluation and field results. *Mar. Biol.* 66 : 109-120.
- FUHRMAN, J.A., Mc MANUS G.B. (1984). Do bacteria-sized marine eukaryotes consume significant bacterial production? *Science* 224 : 1257-1260
- FUHRMAN, J.A., BELL, T.M. (1985). Biological considerations in the measurement of dissolved free aminoacids in seawater and implications for chemical and microbiological studies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 25 : 13-21
- FUHRMAN, J.A., EPPLEY, R.W., HAGSTROM, A., AZAM, F. (1985). Diel variations in bacterioplankton, phytoplankton, and related parameters in the Souther California Bight. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 27 : 9-20
- GALLARDO, Y. (1978). Asymmetry and anomalies of circulation and vertical mixing in the branching of lagoon estuary. *In : Hydrodynamics of Estuaries and Fjords*, pp. 197-206. Elsevier.
- GAST, V. (1985). Bacteria as a food source for microzooplankton in the Schlei Fjord and Baltic Sea with special references to ciliates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 22 : 107-120.
- GLASER, V.M., AL-NUI, M.A., GROSHEV, V.V., SHESTAKOV, S.V. (1973). The labelling of nucleic acids by radioactive precursors in the blue-green algae. *Arch. Mikrobiol.* 92 : 217-226
- GOCKE, K., KREMLING, K., OSTERROHT, C., WENCK, A. (1987). Short-term fluctuations of microbial and chemical variables during different seasons in coastal Baltic waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 40 : 137-144
- GOLDMAN, J.C., CARON, D.A., DENETT, M.R. (1987). Regulation of growth efficiency and ammonium regeneration in bacteria by substrate C : N ratio. *Limnol. Oceanogr.* 32 : 1239-1252
- GONZALEZ, J.M., SHERR, E.B., SHERR, B.F. (1990). Size-selective grazing on bacteria by natural assemblages of estuarine flagellates and ciliates. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 : 583-589
- GOULDER, R. (1977). Attached and free bacteria in an estuary with abundant suspended solids. *J appl. bacteriol.* 43 : 399-405
- GRAN, G. (1952). Determination of the equivalent point in potentiometric titrations, part II. *Analyst* 77 : 661-671
- GRICE, G.D., REEVE, M.R. (eds) (1982). Marine mesocosms. Biological and chemical research in experimental ecosystems. New-York. Springer Verlag 430 pp.
- GRIFFITH, P.C., DOUGLAS, D.J., WAINRIGHT, S.C. (1990). Metabolic activity of size-fractionated microbial plankton in estuarine, nearshore, and continental shelf waters of Georgia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 59 : 263-270
- GRIVELL, A.R., JACKSON, J.F. (1968). Thymidine kinase : Evidence for its absence from *Neurospora crassa* and some other micro-organisms, and the relevance of this to specific labelling of DNA. *J. Gen. Microbiol.* 54 : 307-317
- GROBBELAAR, J.U., JARVIS, A.C., ROBARTS, R.D., SEPHTON, L.M. STEENKAMP, M., CAWOOD, M.E. (1987). A diel study of carbon flow in the pelagic zone of a small lava-lakelet on Marion Island (Sub-Antarctic). *Polar Biol.* 7 : 115-124

- GÜDE, H. (1986). Loss processes influencing growth of planktonic bacterial populations in Lake Constance. *J. Plankton Res.* 8 : 795-810
- GÜDE, H. (1988). Incorporation of ^{14}C -glucose, ^{14}C -amino acids and ^3H -thymidine by different size fractions of aquatic microorganisms. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 31 : 61-69
- GUIRAL, D. (1984). Devenir de la matière organique particulaire dans un milieu eutrophe tropical. *Rev. Hydrobiol. trop.* 17 : 191-206
- GUIRAL, D., LANUSSE, A. (1984). Contribution à l'étude hydrodynamique de la baie de Biétri (Lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). *Doc. Sc. Cent. Oceanogr. Abidjan* 15 : 1-18
- GUIRAL, D., ARFI, R., TORRETON, J.-P. (1988). Mécanismes et incidences écologiques de l'homogénéisation annuelle de densité dans un milieu eutrophe stratifié. *Hydrobiologia* 183 : 195-210
- GUIRAL, D., ARFI, R., TORRETON, J.-P. (1990). Conséquences biogéochimiques de la déstratification d'une baie eutrophe : la baie de Biétri (lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). *Rev. Hydrobiol. Trop.* 23 : 11-25
- HAGSTRÖM, A., LARSSON, U., HORSTEDT, P., NORMARK, S. (1979). Frequency of Dividing Cells, a new Approach to the Determination of Bacterial Growth Rates in Aquatic Environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 37 : 805-812.
- HAGSTRÖM, A., AZAM, F., ANDERSSON, A., WIKNER, J., RASSOULZADEGAN, F. (1988). Microbial loop in an oligotrophic pelagic marine ecosystem : possible roles of cyanobacteria and nanoflagellates in the organic fluxes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 49 : 171-178
- HANSON, R.B., WIEBE, W.J. (1977). Heterotrophic activity associated with particulate size fractions in a *Spartina alterniflora* salt-marsh estuary, Sapelo Island, Georgia, USA and the continental shelf waters. *Mar. Biol.* 42 : 321-330
- HANSON, R.B., LOWERY, H.K. (1983). Nucleic acids synthesis in oceanic microplankton from the Drake Passage, Antarctica : Evaluation of steady-state growth. *Mar. Biol.* 73 : 79-89
- HARRIS, G.P. (1978). Photosynthesis productivity and growth : The physiological ecology of phytoplankton. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 10 : 1-171
- HARVEY, R.W., YOUNG, L.Y. (1980). Enumeration of particle bound and unattached respiring bacteria in the salt-marsh environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 40 : 156-160
- HELDAL, M., BRATBAK, G. (1991). Production and decay of viruses in aquatic environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 72 : 205-212
- HERNDL, G.J., MALACIC, V. (1987). Impact of the pycnocline layer on bacterioplankton : diel and spatial variations in microbial parameters in the stratified water column of the gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 38 : 295-303
- HERNDL, G.J. (1990). Regulatory mechanisms between growth, substrate and exoenzymatic activity in heterotrophic marine bacteria. *4^{ième} Congrès Européen d'Ecologie Microbienne*, Kiel.
- HOBBIE, J.E. (1988). A comparison of the ecology of planktonic bacteria in fresh and salt water. *Limnol. Oceanogr.* 33 : 750-764
- HOBBIE, J.E., DALEY, R.J., JASPER, S. (1977). Use of Nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. environ. Microbiol.* 33 : 1225-1228
- HOLLIBAUGH, J.T. (1988). Limitations of the ^3H thymidine method for estimating bacterial productivity due to thymidine metabolism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 43 : 19-30
- HOLLIBAUGH, J.T., FUHRMAN J.A., AZAM, F. (1980). Radioactively labeling of natural assemblages of bacterioplankton for use in trophic studies. *Limnol. Oceanogr.* 25 : 172-181
- HOPKINSON, C.S., JR., SHERR, B., WIEBE, W.J. (1989). Size fractionated metabolism of coastal microbial plankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 51 : 155-166
- HOPPE, H.-G. (1984). Attachment of bacteria : Advantage or disadvantage for survival in the aquatic environment. *In Microbial Adhesion and Agregation* (Marshall ed.) pp 283-301
- JEFFREY W.H., PAUL J.H. (1986). Underestimation of DNA synthesis by [^3H]Thymidine incorporation in marine bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 3165-3168.

- JEFFREY, W.H., PAUL, J.H. (1988). Effect of 5-Fluoro-2'-Deoxyuridine on [³H]Thymidine incorporation by bacterioplankton in the waters of Southwest Florida. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 331-336
- JEFFREY, W.H., PAUL, J.H. (1988). Activity of attached and free-living *Vibrio* sp. as measured by thymidine incorporation, p-iodonitrotetrazolium reduction, and ATP/DNA ratios. *Appl. Environ. Microbiol.* 51 : 150-156
- JENSEN, L.M., SAND-JENSEN, K., MARCHER, S., HANSEN, M. (1990). Plankton community respiration along a nutrient gradient in a shallow Danish estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 61 : 75-85
- JOHNSTONE, B.H., JONES, R.D. (1989). A study on the lack of [methyl-³H]thymidine uptake and incorporation by chemolithotrophic bacteria. *Microb. Ecol.* 18 : 73-77
- JOIRIS, C., BILLEN, G., LANCELOT, C., DARO, M.H., MOMMAERTS, J.P., HECQ, J.H., BERTELS, A., BOSSICARTA, M., NIJS, J. (1982). A budget of carbon cycling in the Belgian coastal zone : Relative roles of zooplankton, bacterioplankton and benthos in the utilization of primary production. *Netherlands J. Sea Res.* 16 : 260-275
- JORGENSEN, N.O.G., SONDERGAARD, M., HANSEN, H.J., BOSSELMANN, S., RIEMANN, B. (1983). Diel variation in concentration, assimilation and respiration of dissolved free amino acids in relation to planktonic primary and secondary production in two eutrophic lakes. *Hydrobiologia* 107 : 107-122
- JORGENSEN, N.O.G., BOSSELMANN, S. (1988). Concentration of free amino acids and their bacterial assimilation rates in vertical profiles of two Danish lakes : Relation to diel changes in zooplankton grazing activity. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 31 : 289-300
- JUMARS, P.A., PENRY, D.L., BAROSS, J.A., PERRY, M.J., FROST, B.W. (1989). Closing the microbial loop : dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals *Deep Sea Res.* 36 : 483-495
- KAPLAN, L.A., BOTT, T.L. (1989). Diel fluctuations in bacterial activity on streambed substrata during vernal algal blooms : effects of temperature, water chemistry and habitat. *Limnol. Oceanogr.* 34 : 718-733
- KARL, D.M. (1982). Selected nucleic acid precursors in studies of aquatic microbial ecology. *Appl. Environ. Microbiol.* 44 : 891-902
- KIRCHMAN, D.L., MITCHELL, R. (1982). Contribution of particle-bound bacteria to total microheterotrophic activity in five ponds and two marshes. *Appl. Environ. Microbiol.* 43 : 200-209
- KIRCHMAN D.L., DUCKLOW H., MITCHELL R. (1982). Estimates of bacterial growth from changes in uptake rates and biomass. *Appl. Environ. Microbiol.* 44 : 1296-1307.
- KIRCHMAN D.L., SIGDA J., KAPUSCINSKI R., MITCHELL R. (1982). Statistical Analysis of the Direct Count Method for Enumerating Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 44 : 376-382
- KIRCHMAN, D.L., K'NEES, E., HODSON, R. (1985). Leucine incorporation and its potential as a measure of protein synthesis by bacteria in natural aquatic systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 49 : 599-607
- KIRCHMAN, D.L., HOCH M.P. (1988). Bacterial production in the Delaware Bay estuary estimated from thymidine and leucine incorporation rates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45 : 169-178.
- LAANBROEK, H.J., VERPLANKE, J.C. (1986a). Tidal variations in bacterial biomass, productivity and oxygen uptake rates in a shallow channel in the Oosterschelde basin, The Netherlands. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 29 : 1-5
- LAANBROEK, H.J., VERPLANKE, J.C. (1986b). The use of size fractionation for determining the bacterial contribution to overall pelagic oxygen consumption rates. 2ième. Colloque International de Bacteriologie Marine, Brest (France) 1-5 Oct 1984. ACTES COLLOQ. IFREMER, (3) : 191-197
- LAANBROEK, H.J., VERPLANKE, J.C. (1986c). Seasonal changes in percentages of attached bacteria enumerated in a tidal and a stagnant coastal basin : Relation to bacterioplankton productivity. *FEMS Microbiol. Ecol.* 38 : 87-98
- LAMPERT, W. (1978). Release of dissolved organic carbon by grazing zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 23 : 831-834
- LAMPERT, W., TAYLOR, B.E. (1981). Zooplankton grazing in an eutrophic lake : implications of diel vertical migration. *Ecology* 66 : 68-82
- LANDRY, M.R., HAAS, L.W., FAGERNESS, V.L. (1984). Dynamics of microbial plankton communities : experiments in Kanehoe Bay, Hawaii. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 16 : 127-133

- LANGDON, C. (1988). On the causes of interspecific differences in the growth-irradiance relationship for phytoplankton. II. A general review. *J. Plankton Res.* 10 : 1291-1312
- LARRAS, J. (1964). Embouchures, estuaires, lagunes et deltas. éd. Eyrolles (Paris).
- LEBORGNE, R., DUFOUR, P. (1979). Premiers résultats sur l'excrétion et la production du mésozooplancton de la lagune Ebré (Côte d'Ivoire). *Doc. Sci. Cent. Rech. Océanogr. Abidjan* 10 : 1-39
- LEE, S., FUHRMAN, J.A. (1987). Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 : 1298-1303.
- LEMASSON, L., PAGES, J., DUFOUR, P., CREMOUX, J.-L. (1981). Matière organique particulaire et biomasse dans une lagune tropicale. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 14 : 191-212
- LOVELL, C.R., KONOPKA, A. (1985). Seasonal bacterial production in a dimictic lake as measured by increases in cell numbers and thymidine incorporation. *Appl. Environ. Microbiol.* 49 (3) : 492-500
- MAGUE, T.H., FRIBERG, E., HUGHES, D.J., MORRIS, I. (1980). Extracellular release of carbon by marine phytoplankton; a physiological approach. *Limnol. Oceanogr.* 25 : 262-279
- Mc DONOUGH, R.J., SANDERS, R.W., PORTER, K.G., KIRCHMAN, D.L. (1986). Depth distribution of bacterial production in a stratified lake with an anoxic hypolimnion. *Appl. Environ. Microbiol.* 52 : 992-1000
- Mc MANUS, G.B., FUHRMAN, J.A. (1986). Bacterivory in seawater studied with the use of inert fluorescent particles. *Limnol. Oceanogr.* 31 : 420-426
- Mc MANUS, G.B., FUHRMAN, J.A. (1988a). Clearance of bacteria-sized particles by natural populations of nanoplankton in the Chesapeake Bay outflow plume. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 42 : 199-206
- Mc MANUS, G.B., FUHRMAN, J.A. (1988b). Control of marine bacterioplankton populations : measurement and significance of grazing. *Hydrobiologia* 159 : 51-62
- MEYER-REIL, L.A., BOLTER, M., LIEBEZEIT, G., SCHRAMM, W. (1979). Short-term variations in microbiological and chemical parameters *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1 : 1-6
- MOEBUS, K. (1973). Bactericidal properties of natural and synthetic sea water as influenced by addition of low amounts of organic matter. *Mar. Biol.* 15 : 81-88
- MOPPER, K., LINDROTH, P. (1982). Diel and depth variations in dissolved free amino-acids and ammonium in the Baltic sea determined by shipboard HPLC analysis. *Limnol. Oceanogr.* 27 : 336-347
- MORIARTY, D.J.W. (1984). Measurements of bacterial growth rates in some marine systems using the incorporation of thymidine into DNA. In *Heterotrophic Activity in the Sea* (Hobbie, J.E., Williams, P.J. leB., eds). pp. 217-231, Plenum Press, New-York
- MORIARTY, D.J.W. (1986). Measurement of bacterial growth rates in aquatic systems from rates of nucleic acid synthesis. *Adv. Microb. Ecol.* 9 : 245-292
- MORIARTY, D.J.W. (1988). Accurate conversion factors for calculating bacterial growth rates from thymidine incorporation into DNA : Elusive or illusive? *Arch. Hydrobiol. Beih.* 31 : 211-217.
- MORIARTY, D.J.W., POLLARD, P.C. (1981). DNA synthesis as a measure of bacterial productivity in seagrass sediments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 5 : 151-156
- MORIARTY, D.J.W., POLLARD, P.C. (1982). Diel variation of bacterial productivity in seagrass beds measured by thymidine incorporation into DNA. *Mar. Biol.* 72 : 165-173
- MORIARTY, D.J.W., POLLARD, P.C., HUNT. (1985). Temporal and spatial variation in bacterial production in the water column over a coral reef. *Mar. Biol.* 85 : 285-292
- MORIARTY, D.J.W., POLLARD, P.C. (1990). Effects of radioactive labelling of macromolecules, disturbance of bacteria and adsorption of thymidine to sediment on the determination of bacterial growth rates in sediment with tritiated thymidine. *J. Microb. Meth.* 11 : 127-139
- NAGATA, T. (1986). Carbon and nitrogen content of natural planktonic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 52 : 28-32.
- NAGATA, T. (1987). Production rate of planktonic bacteria in the north Basin of Lake Biwa, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 : 2872-2882.

- NAGATA, T., WATANABE, Y. (1990). Carbon and nitrogen to volume ratios of bacterioplankton grown under different nutritional conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 : 1303-1309.
- NEWELL, R.C., TURLEY, C.M. (1987). Carbon and nitrogen flow through pelagic and microheterotrophic communities. In : *The Benguela and comparable ecosystems*. (Payne, A.I.L., Gulland, J.A. and K.H. Brink, Eds). *S. Afr. J. mar Sci.* 5 : 717-734
- NEWELL, S.Y., SHERR, B.F., SHERR, E.B., FALLON, R.D. (1983). Bacterial response to presence of eucaryotic inhibitors in water from a coastal marine environment. *Mar. Env. Res.* 10 : 147-157
- NORLAND, S., HELDAL, M., TUMYR, O. (1987). On the relation between dry matter and volume of bacteria. *Microb. Ecol.* 13 : 95-101
- NOVITSKY, J.A. (1990). Protozoa abundance, growth and bacterivory in the water column, on sedimenting particles and in the sediment of Halifax Harbour. *Can. J. Microbiol.* 36 : 859-863
- NYGAARD, K., BORSHEIM, K.Y., THINGSTADT, T.F. (1988). Grazing rates on bacteria by marine heterotrophic microflagellates compared to uptake rates of bacteria-sized monodisperse fluorescent latex beads. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 44 : 159-165
- OREMLAND, R.S., CAPONE, D.G. (1988). Use of "specific" inhibitors in biogeochemistry and microbial ecology. *Adv. Microb. Ecol.* 10 : 285-383
- PACE, M.L., BAILIFF, M.D. (1987). Evaluation of a fluorescent microsphere technique for measuring grazing rates of phagotrophic microorganisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 40 : 185-193
- PACE, M.L. (1988). Bacterial mortality and the fate of bacterial production. *Hydrobiologia* 159 : 41-49
- PACE, M.L., McMANUS, G.B., FINDLAY, S.E.G. (1990). Planktonic community structure determines the fate of bacterial production in a temperate lake. *Limnol. Oceanogr.* 35 : 795-808
- PACKARD, T.T. (1985). Measurement of electron transport system activity of microplankton. *Adv. Aquatic Microbiol.* 3 : 207-261
- PACKARD, T.T., GARFIELD, P.C., MARTINEZ, R. (1983). Respiration and respiratory enzyme activity in aerobic and anaerobic cultures of the marine denitrifying bacterium, *Pseudomonas perfectomarinus*. *Deep-Sea Res.* 30 : 227-243
- PACKARD, T.T., WILLIAMS, P.J.leB. (1981). Rates of respiratory oxygen consumption and electron transport in surface seawater from the Northwest Atlantic. *Oceanol. Acta.* 4 : 351-358
- PAGANO, M., SAINT-JEAN, L. (1985). Premières données sur la nutrition d'Acartia Clausi en lagune Ebré (Côte d'Ivoire) obtenues par des mesures de fluorescence des broyats d'animaux. *Hydrobiologia* 121 : 83-95
- PAGANO, M., SAINT-JEAN, L. (1988). Importance et rôle du zooplancton dans une lagune tropicale, la lagune Ebré (Côte d'Ivoire) : Peuplements, biomasse, production et bilan métabolique. Thèse Univ. d'Aix-Marseille II 389 pp.
- PAGES, J., LEMASSON, L. (1981). Production et utilisation du carbone organique dissous dans une lagune tropicale. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 14 : 83-101
- PAGES, J., LEMASSON, L., DUFOUR, P. (1979). Eléments nutritifs et production primaire dans les lagunes de Côte d'Ivoire. Cycle annuel. *Arch. sci. CRO Abidjan* 5 : 1-60
- PAINCHAUD, J., LEFAIVRE, D., TERRIAULT, J.C. (1987). Box model analysis of bacterial fluxes in the St Lawrence Estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 41 : 241-252.
- PAINCHAUD, J., TERRIAULT, J.-C. (1989). Relationships between bacteria, phytoplankton and particulate organic carbon in the upper St. Lawrence estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 56 : 301-311
- PALUMBO, A.V., FERGUSON, R.L., RUBLEE, P.A. (1984). Size of suspended bacterial cells and association of heterotrophic activity with size fractions of particles in estuarine and coastal waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 48 : 157-164
- PAUL, J.H., CARLSON, D.J. (1984). Genetic material in the marine environment : Implication for bacterial DNA. *Limnol. Oceanogr.* 29 : 1091-1097
- PAUL, J.H., JEFFREY, W.H., DEFLAUN, M. (1985). Particulate DNA in subtropical oceanic and estuarine planktonic environments. *Mar. Biol.* 90 : 95-101
- PAUL, J.H., JEFFREY, W.H., DEFLAUN, M. (1987). Dynamics of extracellular DNA in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 : 170-179

- PAUL, J.H., DEFLAUN, M.F., JEFFREY, W.H., DAVID, A.W. (1988). Seasonal and diel variability in dissolved DNA and in microbial biomass and activity in a subtropical estuary. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 718-727
- PEDROS-ALIO, C., NEWELL, S.Y. (1989). Microautoradiographic study of thymidine uptake in Brackish Waters around Sapelo Island, Georgia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 55 : 83-94
- PLANTE-CUNY, M.R. (1977). Pigments photosynthétiques et production primaire du microphytobenthos d'une lagune tropicale, la lagune Ebrié. *Cah. ORSTOM. Ser. Oceanogr.* 15 : 3-25
- POLLARD, P.C., MORIARTY, J.W. (1984). Validity of the tritiated thymidine method for estimating bacterial growth rates : measurements of isotope dilution during DNA synthesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 48 : 1076-1083.
- POMEROY, L.R., WIEBE, W.J. (1988). Energetics of microbial food webs. *Hydrobiologia* 159 : 7-18
- PORTER, K.G., FEIG, Y.S. (1980). The Use of DAPI for identifying and Counting Aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.* 25 : 943-948.
- PROCTOR, L.M., FUHRMAN, J.A. (1991). Roles of viral infection in organic particle flux. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69 : 133-142
- PROCTOR, L.M., FUHRMAN, J.A., LEDBETTER, M.C. (1990). Marine bacteriophages and bacterial mortality. *EOS* 69 : 111-112
- PROCTOR, L.M., FUHRMAN, J.A., LEDBETTER, M.C. (1990). Viral mortality of bacteria and cyanobacteria. *Nature* 343 : 60-62
- PSENNER, R. (1990). From image analysis to chemical analysis of bacteria : A long-term study? *Limnol. Oceanogr.* 35 : 234-237
- RELEXANS, J.-C., GAUCHER, B., ETCHEBER, H. (1984). Activité des systèmes transporteurs d'électrons (ETS) et paramètres biochimiques de quelques algues et bactéries planctoniques d'eau douce cultivées in vitro. *C. R. Acad. Sc. Paris*, t.299, Série II (14) : 943-946
- RIEMANN, B. (1984). Determining growth rates of natural assemblages of freshwater bacteria by means of ^3H thymidine incorporation into DNA : comments on methodology. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergeb. Limnol.* 19 : 67-80
- RIEMANN, B. (1985). Potential importance of fish predation and zooplankton grazing on natural populations of freshwater bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 50 : 187-193
- RIEMANN, B., FUHRMAN, J., AZAM, F. (1982). Bacterial secondary production in freshwater measured by ^3H thymidine incorporation method. *Microb. Ecol.* 8 : 101-114
- RIEMANN, B., SONDERGAARD, M. (1984). Measurement of diel rates of bacterial secondary production in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 47 : 632-638.
- RIEMANN, B., JORGENSEN, N.O.G., LAMPERT, W., FUHRMAN, J.A. (1986). Zooplankton-induced changes in dissolved free amino-acids and production rates of freshwater bacteria. *Microb. Ecol.* 12 : 247-258
- RIEMANN, B., SONDERGAARD, M. (1986). Regulation of bacterial secondary production in two eutrophic lakes and in experimental enclosures. *Microb. Ecol.* 12 : 519-536
- RIEMANN, B., BJORNSEN, P.K., NEWELL, S., FALLON, R. (1987). Calculation of cell production of coastal marine bacteria based on measured incorporation of ^3H -thymidine. *Limnol. Oceanogr.* 32 : 471-476.
- RIEMANN, B., BELL, R.T., JORGENSEN, N.O.G. (1990). Incorporation of thymidine, adenine and leucine into natural bacterial assemblages. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 65 : 87-94
- ROBARTS, R.D., WICKS, R.J., SEPHTON, L.M. (1986). Spatial and temporal variations in macromolecule labeling with [methyl- ^3H]-Thymidine in a hypertrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 52 : 1368-1373
- ROBARTS, R.D., WICKS, R.J. (1989). Methyl- ^3H -thymidine macromolecular incorporation and lipid labeling : Their significance to DNA labeling during measurements of aquatic bacterial growth rate. *Limnol. Oceanogr.* 34 : 213-322.
- ROMAN, M.R. (1984). Ingestion of detritus and microheterotrophs by pelagic marine zooplankton. *Bull. mar. Sci.* 35 : 477-494
- ROMANO, J.-C., NAVARRO, A. (1985). Utilisation des mesures de charge énergétique, d'ETS et de ^{14}C -assimilation pour le suivi de l'activité microplanktonique dans des eaux côtières sous l'influence des rejets urbains. *Mar. Biol.* 87 : 229-238
- ROMANO, J.-C., MIMURA, T., de SOUZA-LIMA, Y. (1987a). Approche discriminante de la contributions de différents échelons microplanctoniques aux mesures globales d'ETS dans des échantillons d'eau de mer. a. Phytoplankton. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 72 : 457-472

- ROMANO, J.-C., LABORDE, P., MIMURA, T., de SOUZA-LIMA, Y. (1987b). Approche discriminante de la contributions de différents échelons microplanctoniques aux mesures globales d'ETS dans des échantillons d'eau de mer. b. Bactéries. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 72 : 607-630
- RUBLEE, P.A., MERKEL, S.M., FAUST, M.A., MIKLAS, J. (1984). Distribution and activity of bacteria in the headwaters of the Rhode River estuary, Maryland, USA. *Microb. Ecol.* 10 : 243-255
- SAND-JENSEN, K., JENSEN, L.M., MARCHER, S., HANSEN, M. (1990). Pelagic metabolism in eutrophic coastal waters during a late summer period. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 65 : 63-72
- SANDERS, R.W., PORTER, K.G. (1986). Use of metabolic inhibitors to estimate protozooplankton grazing and bacterial production in a monomictic eutrophic lake with an anaerobic hypolimnion. *Appl. Environ. Microbiol.* 52 : 101-107.
- SANDERS, R.W., PORTER, K., BENNETT, S.J., DE BIASE, A.E. (1989). Seasonal patterns of bacterivory by flagellates, ciliates, rotifers and cladocerans in a freshwater planktonic community. *Limnol. Oceanogr.* 34 : 673-687
- SCAVIA, D., LAIRD, G.A. (1987). Bacterioplankton in Lake Michigan. Dynamics, controls, and significance to carbon flux. *Limnol. Oceanogr.* 32 : 1017-1033.
- SCAVIA D., LAIRD G.A., FAHNENSTIEL (1986). Production of planktonic bacteria in Lake Michigan. *Limnol. Oceanogr.*, 31 : 612-626.
- SCAVIA, D. (1988). On the role of bacteria in secondary production. *Limnol. Oceanogr.* 33 : 1220-1224
- SCHWAERTER, S., SONDERGAARD, M., RIEMANN, B., JENSEN, L.M. (1988). Respiration in eutrophic lakes : the contribution of bacterioplankton and bacterial growth yield. *J. Plankton Res.* 10 : 515-531
- SEPERS, A.B.J., VAN ES, F.B. (1979). Heterotrophic uptake experiments with ¹⁴C labeled histidine in a histidine-limited chemostat. *Appl. Environ. Microbiol.* 37 : 794-799
- SEPERS, A.B.J. (1981). The aerobic mineralization of amino acids in the saline Lake Grevelingen and the freshwater Haringvliet basin (The Netherlands). *Arch. Hydrobiol.* 92 : 114-129
- SEPERS, A.B.J., CAHET, G., GOOSSENS, H. (1982). Comparison Between the Carbon-14 and Oxygen Consumption Method for the Determination of the Activity of Heterotrophic Bacterial Populations. *Mar. Biol.* 66 : 237-242
- SERVAIS, P. (1987). Etude de la dégradation de la matière organique par les bactéries hétérotrophes en rivière. Thèse de Doctorat. Univ. Libre de Bruxelles. 271 pp.
- SERVAIS, P. (1989). Bacterioplanktonic biomass and production in the river Meuse (Belgium). *Hydrobiologia* 174 : 99-110
- SERVAIS, P., BILLEN, G., VIVES REGO, J. (1985). Rate of bacterial mortality in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 49 : 1448-1454.
- SERVAIS, P., MARTINEZ, J., BILLEN, G., VIVES-REGO, J. (1987). Determining ³H-thymidine incorporation into bacterioplankton DNA. Improvement of the method by DNase treatment. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 : 1977-1979.
- SHARP, J.H. (1977). Excretion of organic matter by marine phytoplankton : do healthy cells do it? *Limnol. Oceanogr.* 22 : 381-399
- SHERR, B.F., SHERR, E.B., ANDREW, T.L., FALLON, R.D., NEWELL, S.Y. (1986). Trophic interactions between heterotrophic protozoa and bacterioplankton in estuarine water analyzed with selective metabolic inhibitors. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 32 : 169-179
- SHERR, B.F., SHERR, E.B., FALLON, R.D. (1987). Use of monodispersed, fluorescently labeled bacteria to estimate in situ protozoan herbivory. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 : 958-965.
- SHERR, E.B., SHERR, B.F. (1987). Bacterivory in pelagic ciliated protozoa. *Nature*, 325 : 710
- SHILO, M. (1984). *Bdellovibrio* as a predator. In *Current perspectives in microbial ecology*. (Klug, M.J., Reddy, C.A., eds) American Society for Microbiology, Washington, DC : 334-339
- SIERACKI, M.E., SIEBURTH, J.McN. (1986). Sunlight-induced growth delay of planktonic marine bacteria in filtered seawater. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 33 : 19-27
- SIERACKI, M.E., HAAS, L.W., CARON, D.A., LESSARD, E.J. (1987). Effect of fixation on particle retention by microflagellates : underestimation of grazing rates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 38 : 251-258

- SIMON, M., AZAM, F. (1989). Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 51 : 203-213
- SIMON, M. (1985). Specific uptake rates of amino acids by attached and free-living bacteria in a mesotrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 49 : 1254-1259
- SMITS, J.D., RIEMANN, B. (1988). Calculation of cell production from ³H-thymidine incorporation with freshwater bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 2213-2219
- SONDERGAARD, M., RIEMANN, B., JORGENSEN, N.O.G. (1985). The importance of extracellular organic carbon (EOC) released by phytoplankton. *Oikos* 45 : 323-332
- SONDERGAARD, M., MIDDELBOE, M., NIELSEN, B. (1990). Dynamic and decomposition of dissolved organic carbon in coastal waters. 4^{ième} Congrès Européen d'Ecologie Microbienne, Kiel.
- STONE, S., GANF, G. (1981). The influence of previous light history on the respiration of four species of freshwater phytoplankton. *Arch. Hydrobiol.* 91 : 435-462
- STRAYER, D. (1988). On the limits to secondary production. *Limnol. Oceanogr.* 33 : 1217-1220
- STRICKLAND, J.D.H., PARSONS, T.R. (1968). A practical handbook of seawater analysis. *Fish. Res. Board Can.* 167. 311 pp
- STROFFEK, S. (1990). Les transferts verticaux de matière et leur modification par les bactéries hétérotrophes fixées sur particules en sédimentation dans les eaux de surface de deux grands lacs alpins (Lac Léman, Lac du Bourget, France). Thèse Univ. Lyon I, 175 pp.
- STROFFEK, S., DUFOUR, P. (1991). Degradation of settling organic particles in surface waters of Lake Léman : The role of planktonic bacteria. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* (in press)
- STUMM, W., MORGAN, J.J. (1970). *Aquatic chemistry*. Wiley Intersciences, N.Y., 583 pp.
- SUGIMURA, Y., SUZUKI, Y. (1988). A high temperature catalytic oxidation method for the determination of non-volatile dissolved organic carbon in seawater by direct injection of a liquid sample. *Marine Chemistry* 24 : 105-131
- TABOR, P.S., NEIHOF, R.A. (1982). Improved microautoradiographic method to determine individual microorganisms active in substrate uptake in natural waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 44 : 945-953
- TASTET, J.-P. (1974). *L'environnement physique du système lagunaire Ebrié*. Université d'Abidjan. Fac. Sci. Dept. Sci. Terre, Série Documentation, 11 : 28pp.
- TASTET, J.-P. (1979). Environnements sédimentaires et structuraux quaternaires du littoral du golfe de Guinée (Côte d'Ivoire, Togo, Bénin). Thèse Doc. Etat. Univ. de Bordeaux I, 212pp.
- TASTET, J.-P., GUIRAL, D. (1991). Géologie et sédimentologie. In *Environnement et ressources aquatiques de Côte d'Ivoire. 2 - Le milieu lagunaire*. (Durand, J.-R., Dufour, P., Zabi, S., Eds), sous presse
- TAYLOR, G.T., PACE, M.L. (1987). Validity of eucaryote inhibitors for assessing production and grazing mortality of marine bacterioplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 : 119-128
- TAYLOR, G.T., ITTURIAGA, R., SULLIVAN, C.W. (1985). Interactions of bacterivorous grazers and heterotrophic bacteria with dissolved organic matter. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 23 : 129-141
- TOBIN, R.S., ANTHONY, D.H.J. (1978). tritiated thymidine incorporation as a measure of microbial activity in lake sediments. *Limnol. Oceanogr.* 23 : 161-165
- TORRELLA, F., MORITA, R.Y. (1979). Evidence by electron micrographs for a high incidence of bacteriophage particles in the waters of Yaquina Bay, Oregon : ecological and taxonomical implications. *Appl. Environ. Microbiol.* 37 : 774-778
- TORRETON, J.-P., GUIRAL, D., ARFI, R. (1989). Bacterioplankton biomass and production during destratification in a monomictic eutrophic bay of a tropical lagoon. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 57 : 53-67
- TORRETON, J.-P., BOUVY, M. (1991). Estimating bacterial DNA synthesis from ³H-thymidine incorporation : Discrepancies among macromolecular extraction procedures. *Limnol. Oceanogr.* 36 : 299-306
- TREMAINE S.C., MILLS, A.L. (1987). Tests of the critical assumptions of the dilution method for estimating bacterivory by microeucaryotes. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 : 2914-2921.
- TURLEY, C., LOCHTE, K. (1986). Diel changes in the specific growth rate and mean cell volume of natural bacterial communities in two different water masses in the Irish Sea. *Microb. Ecol.* 12 : 271-282

- UNANUE, M., BARCINA, I., EGEA, L., IRRIBERI, J. (1990). Is attachment to particles and advantage for aquatic bacteria when trophic conditions are favourable? 4^{ième} Congrès Européen d'Ecologie Microbienne, Kiel
- VAN WAMBEKE, F. (1988). Numération et taille des bactéries planctoniques au moyen de l'analyse d'images couplée à l'épifluorescence. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.* 139 : 261-272
- VARLET, F. (1978). Le régime de la lagune Ebré (Côte d'Ivoire) : traits physiques essentiels. *Trav. Doc. ORSTOM*, 83, 164pp.
- VELJI, M.I., ALLBRIGHT, L.J. (1986). Microscopic enumeration of attached marine bacteria of seawater, marine sediment, fecal matter, and kelp blade samples following pyrophosphate and ultrasound treatments. *Can. J. Microbiol.* 32 : 121-126
- VERITY, P.G. (1982). Effects of temperature, irradiance and daylength on the marine diatom, *Leptocylindricus danicus* Cleve. III. Dark respiration. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 60 : 197-208
- WAINRIGHT, S.C. (1987). Stimulation of heterotrophic microplankton production by resuspended marine sediments. *Science* 238 : 1708-1712
- WAINRIGHT, S.C. (1990). Sediment to water fluxes of particulate material and microbes by resuspension and their contribution to the planktonic food web. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 62 : 271-281
- WALSH, G.E. (1965). Studies on dissolved carbohydrate in Cape Cod waters. 2. Diurnal fluctuations in Oyster pond. *Limnol. Oceanogr.* 10 : 577-582
- WANGERSKY, P.J. (1984). Organic particles and bacteria in the ocean. In *Heterotrophic activity in the sea* (Hobbie, J.E., Williams, P.J.LeB., eds.). Plenum Press, New-York.
- WATSON, S.W., NOVITSKY, J.J., QUINBY, H.L., VALOIS, F.W. (1977). Determination of bacterial numbers and biomass in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 33 : 940-946.
- WEBB, K.L., D'ELIA, C.F. (1980). Nutrient and oxygen redistribution during a spring-neap tidal cycle in a temperate estuary. *Science* 207 : 983-984
- WEISSE, T. (1989). The microbial loop in the Red Sea : Dynamics of pelagic bacteria and heterotrophic flagellates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 55 : 241-250
- WEISSE, T. (1990). Trophic interactions among heterotrophic microplankton, nanoplankton, and bacteria in lake Constance. *Hydrobiologia* 191 : 11-122
- WEISSE, T., SCHEFFEL-MOSER, U. (1991). Un coupling the microbial loop : growth and grazing loss rates of bacteria and heterotrophic nanoflagellates in the North Atlantic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 71 : 195-205
- WELLSBURY, P.K., HERBERT, R.A., PARKES, R.J. (1990). Limitations on the use of [*methyl-3H*]thymidine incorporation for bacterial production estimates in anoxic marine sediments. 4^{ième} Congrès Européen d'Ecologie Microbienne, Kiel.
- WHEELER, P.A. KIRCHMAN, D.L., LANDRY, M.R., KOKKINAKIS, S.A. (1989). Diel periodicity in ammonium uptake and regeneration in the oceanic subarctic pacific : Implications for interactions in the microbial food webs. *Limnol. Oceanogr.* 34 : 1025-1033
- WICKS, R.J., ROBERTS, R.D. (1987). The extraction and purification of DNA labelled with [*methyl-3H*]thymidine in aquatic bacterial production studies. *J. Plankton Res.* 9 : 1159-1166
- WICKS R.J., ROBERTS R.D. (1988). Ethanol extraction requirements for purification of protein labeled with ³H leucine in aquatic bacterial production studies. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 3191-3193
- WIGGINS, B.A., ALEXANDER, M. (1985). Minimum bacterial density for bacteriophage replication : Implications for significance of bacteriophages in natural ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* 49 : 19-23
- WIKNER J., ANDERSSON A., NORMARK S., HAGSTRÖM, A. (1986). Use of genetically marked minicells as a probe in measurement of predation on bacteria in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 52 : 4-8.
- WIKNER, J., RASSOULZADEGAN, F., HAGSTRÖM, A. (1990). Periodic bacterivore activity balances bacterial growth in the marine environment. *Limnol. Oceanogr.* 35 : 313-324a
- WILLIAMS, P.J.LeB. (1981). Microbial contribution to overall marine plankton metabolism: direct measurements of respiration. *Oceanol. Acta* 4 : 359-364
- WILLIAMS, P.J.LeB., ROBERTSON, J.E. (1991). Overall planktonic oxygen and carbon dioxide metabolisms: the problem of reconciling observations and calculations of photosynthetic quotients. *J. Plankton Res.* 13 supplement : 153-169

- WILSON, C.A., STEVENSON, L.J. (1980). The dynamics of the bacterial population associated with a salt marsh. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 48 : 123-135
- WITZEL, K.P., GRAF, G. (1984). On the use of different nucleic acid precursors for the measurement of microbial nucleic acid turnover. *Ergeb. Limnol.* 19 : 59-65
- WRIGHT, R.T., COFFIN R.B. (1984). Measuring microzooplankton grazing on planktonic marine bacteria by its impact on bacterial production. *Microb. Ecol.* 10 : 137-149.
- WRIGHT, R.T., COFFIN, R.B., LEBO, M.E. (1987). Dynamics of planktonic bacteria and heterotrophic microflagellates in the Parker Estuary, northern Massachusetts. *Cont. Shelf. Res.* 7 : 1383-1397.
- YOON, W.B., ROSSON, R.A. (1990). Improved method of enumeration of attached bacteria for study of fluctuation in the abundance of attached and free-living bacteria in response to diel variation in seawater turbidity. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 : 595-600
- ZEHR, J.P., HARVEY, R.W., OREMLAND, R.S., CLOERN, J.E., GEORGE, L.H., LANE, J.L. (1987). Big Soda Lake (Nevada). 1. Pelagic bacterial heterotrophy and biomass. *Limnol. Oceanogr.* 32 : 781-793
- ZIMMERMAN, R. (1977). Estimation of bacterial number and biomass by epifluorescence microscopy and scanning electron microscopy. p103-120. In *Microbial ecology of a brackish water environment* (Rheinheimer, R., ed), Springer-Verlag, New-York.
- ZLOTNIK, I., DUDINSKY, Z. (1989). The effect of light and temperature on DOC excretion by phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 34 : 831-839

ISBN : 2-7099-1097-7
Éditions de l'ORSTOM
72, route d'Aulnay
93143 BONDY Cedex