

Université Française du Pacifique

D.E.A.

Diplôme d'études approfondies

Connaissance et gestion des Ecosystèmes Coralliens Littoraux et Océaniques
C.G.Mi.C.L.O.

Présenté par **Odile Fouquet**

Importance du bactériobenthos dans les fonds meubles du lagon de Tahiti

Sous la direction scientifique de :
Jean-Pascal TORRETON, Chargé de Recherche à l'IRD

Soutenu le 24 juin 1995, devant le jury composé de :

Président : Raymond BAGNIS, professeur
Membres : Christian HERBAUT, professeur
Claude PAYRI, professeur
Antoine PEYRE, professeur

Centre ORSTOM de Tahiti, BP 529 - Papeete
Tahiti, Polynésie Française

Sommaire

I. INTRODUCTION	2
A. Cadre de l'étude	2
B. Objectifs de l'étude	3
C. Présentation du lieu d'étude	3
D. Les zones d'étude	4
II. METHODES STANDARDS	6
A. Prélèvements	6
B. Dénombrements bactériens	6
1. Principe	6
2. Protocole de base sur la colonne d'eau	7
C. Production de biomasse bactérienne déterminée par l'incorporation de thymidine	8
1. Principe	8
2. Protocole de base sur la colonne d'eau	8
D. Poids sec et teneur en matière organique	9
E. Pigments chlorophylliens	9
III. MISE AU POINT METHODOLOGIQUE	10
A. Mise au point des dénombrements bactériens dans les sédiments	10
1. Particularité des bactéries du sédiment	10
2. Lecture des lames	10
3. Protocoles de détachement publiés	11
4. Comparaison de deux protocoles	11
5. Reproductibilité des dénombrements bactériens des sédiments.	14
B. Mise au point de la mesure de production bactérienne dans les sédiments	15
1. Protocoles disponibles	15
2. Méthode de base (Moriarty, 1986)	15
3. Mise au point sur les sédiments du lagon de Tahiti	16
C. Optimisation du nombre de carottes par station	24
IV. RESULTATS <i>IN SITU</i>	26
A. Variations dans le temps	27
B. Comparaisons entre les zones et les stations	28
C. Comparaison entre le sédiment et la colonne d'eau	29
D. Comparaison entre carbone phytobenthique et carbone bactériobenthique	32
E. Comparaison des abondances et productions avec les valeurs publiées.	33
F. Relations entre abondance et/ou production matière organique	34
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	36

I. INTRODUCTION

A. Cadre de l'étude

Notre environnement subit une évolution inéluctable due à l'accroissement démographique et au développement économique. Le milieu marin et particulièrement le milieu côtier en subissent les conséquences. Cette pression sur l'environnement est tout particulièrement sensible en milieu tropical (Hatcher *et al.*, 1989). Les altérations des écosystèmes coralliens découlent de l'action conjointe des événements naturels et des différentes perturbations liées à l'activité humaine. Le programme ANTROPIC du centre ORSTOM de Tahiti a pour objectif l'analyse des relations entre les mécanismes biogéochimiques régissant les équilibres trophiques et la dynamique des peuplements benthiques. Ces peuplements utilisés en tant que bio-indicateurs de l'état d'anthropisation du milieu récifo-lagonaire pourraient fournir un outil de diagnostic de l'état de l'environnement. Il s'agit de rechercher les corrélations entre l'évolution des communautés et celle des cycles biogéochimiques le long de gradients trophiques entre les zones d'apports terrestres (embouchures de rivières) et le système océanique tropical oligotrophe.

L'évolution des cycles biogéochimiques est abordée par l'étude des principales caractéristiques de la masse d'eau, du sédiment et des échanges entre l'eau et le sédiment.

Dans les zones côtières, la production primaire est forte et l'entrée de matériel organique exogène (ruissellement, déchets agricoles, industriels et urbains) dans le sédiment est importante. Au sein des sédiments, les bactéries interviennent dans les flux de matière et d'énergie par leur action reminéralisatrice des sels minéraux et leur production de biomasse. Dans le sédiment les interactions entre les communautés sont complexes. Ainsi, la bioturbation exercée par la faune benthique influence l'activité bactérienne par une réoxygénation du sédiment et un échange de matière organique entraînant une augmentation de la densité bactérienne (Dale, 1974). A l'opposé, la faune benthique est responsable du contrôle de la biomasse bactérienne des sédiments (Alongi, 1986). Ces étroites relations entre communautés benthiques sont responsables de l'équilibre des populations bactériennes.

B. Objectifs de l'étude

Au sein du programme ANTROPIC, les études microbiologiques ont pour objectif d'évaluer l'évolution de la biomasse et des activités bactériennes benthiques afin d'estimer le degré d'eutrophisation de quelques sites lagunaires. L'importance des activités bactériennes est bien sûr très étroitement conditionnée par le niveau d'oxygénation des sédiments. Ce travail se limite à l'étude de l'abondance bactérienne totale et de la production de biomasse par les bactéries aérobies dans le premier centimètre de sédiment.

Les bactéries du sédiment ont été peu étudiées, surtout en milieu corallien. L'objectif principal de ce travail est donc de vérifier et au besoin d'adapter les méthodes publiées aux sédiments meubles du lagon de Tahiti. Des mesures parallèles dans la colonne d'eau et les sédiments ont été réalisées afin de comparer l'importance respective des processus bactériens planctoniques et benthiques.

Une revue des travaux effectués dans les milieux benthiques côtiers a montré qu'il existait une bonne corrélation entre production bactérienne de biomasse et richesse du milieu (Sanders et Kalff, 1994). Le deuxième objectif de ce travail est donc d'évaluer s'il existe une relation entre les apports (richesse en matière organique) et les paramètres bactériens (abondance et production). Cette relation si elle existe permettrait, dans une perspective de modélisation, d'évaluer la production et la biomasse bactérienne par la simple mesure de la matière organique.

C. Présentation du lieu d'étude

Tahiti est une île de l'Archipel de la Société en Polynésie Française. Située par 17°45' de latitude sud et 149°20' de longitude ouest, cette île haute volcanique occupe une superficie de 1042 km². Elle est entourée d'un récif corallien se construisant au fur et à mesure de la subsidence de l'édifice. Le lagon est étroit (100 à 1000 m) et peu profond (une quarantaine de mètres au maximum).

L'impact anthropique est important en raison du développement démographique, industriel et touristique. Comme de nombreux pays insulaires de la ceinture tropicale du pacifique soumises à un développement économique rapide et souvent mal contrôlé, Tahiti n'est pas équipé de système d'assainissement et de traitement des déchets (stockage des déchets non traités en fond de vallée, rejets direct des eaux usées). Les effluents sont collectés et rejetés par les eaux de ruissellement et les rivières dans ce lagon étroit entouré d'un système océanique typiquement oligotrophe.

D. Les zones d'étude

Quatre zones d'étude (Fig. 1) ont été sélectionnées sur des aspects d'aménagement (degré d'anthropisation) et d'accessibilité (facilité pour des visites régulières à partir du centre ORSTOM d'Arue).

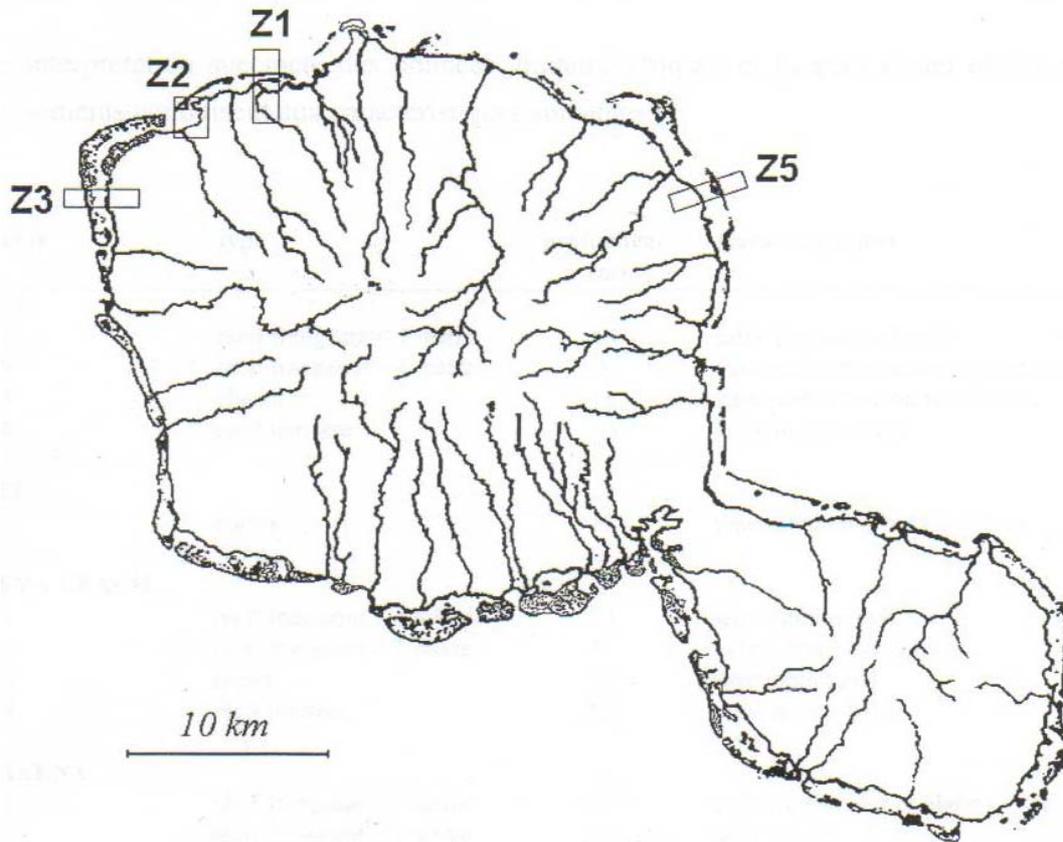


Figure 1 : Localisation des 4 zones étudiées

Les 4 zones choisies comprennent 3 zones perturbées:

Zone 1 : ORSTOM - YACHT CLUB d'Arue

de type polyvalent: urbain (résidentiel et industriel) et plaisance.

Zone 2 : PORT de PAPEETE

de type portuaire, station suivie par le laboratoire d'études et de suivi de l'environnement (LESE).

Zone 3 : MAEVA BEACH

de type hôtelier, station 13 du Réseau Territorial d'Observation (RTO).

et une zone témoin non perturbée

Zone 5 : MAHAENA

correspondant aux stations 14 et 15 du RTO.

Les quatre stations de chaque zone ont été choisies le long d'une radiale eau douce - océan en tenant compte de l'hydrodynamisme local (toutes les zones se situent à l'embouchure d'une rivière) et de la géomorphologie. Les unités de base (récif frangeant, lagon et récif barrière) sont représentées.

Le travail de thèse de P. Frouin commencé en mai 1993 permet de bénéficier de données acquises depuis 2 ans concernant notamment la granulométrie et le taux de matière organique des sédiments. Une interprétation succincte des données granulométriques et l'aspect visuel noté lors des prélèvements conduisent aux caractéristiques suivantes :

Stations	type	profondeur (m)	Caractéristiques
ARUE			
Z1S1	récif frangeant < 1 mètre	< 1	sable fin marron foncé
Z1S5	récif frangeant > 1 mètre	6	vase sablon très aqueuse marron foncé
Z1S3	chenal	18	vase sablon marron très foncé
Z1S4	récif barrière	2.5	sable moyen blanc
PORT			
Z2	chenal	13	vase sablon marron très foncé
MAEVA BEACH			
Z3 S1	récif frangeant < 1 mètre	< 1	sable fin noir et blanc
Z3 S2	récif frangeant > 1 mètre	9	vase sablon noir et blanc
Z3 S3	chenal	13	vase sablon gris
Z3 S4	récif barrière	2.5	sable moyen blanc
MAHAENA			
Z5 S1	récif frangeant < 1 mètre	< 1	sable moyen noir et blanc
Z5 S2	récif frangeant > 1 mètre	9	sable fin gris
Z5 S3	chenal	21	vase sablon marron foncé
Z5 S4	récif barrière	2.5	sable fin blanc

II. METHODES STANDARDS

A. Prélèvements

Les prélèvements de sédiments ont été réalisés à l'aide de mini-carottiers. Ce sont des seringues en polypropylène (contenance 25 ml et diamètre 3,5 cm) dont l'embout a été découpé. 5 carottes, réparties au hasard sur chaque site (environ 100 m²) sont prélevées. La variabilité des mesures due aux prélèvements a été estimée par la suite au moyen des mesures d'activité. (cf. paragraphe C du III). Les carottages sont réalisés en enfonçant le corps de la seringue dans le sédiment sur une dizaine de centimètres. Le bouchon est placé à l'extrémité supérieure, puis le piston à l'extrémité inférieure. La carotte, toujours tenue droite, peut alors être extraite de son milieu. Les échantillons sont immédiatement placés à l'obscurité dans une glacière à température ambiante jusqu'à l'arrivée au laboratoire (moins de 2 heures après).

Après avoir extrudé le premier centimètre du dépôt sédimentaire à l'aide du piston, les 5 carottes sont mélangées dans un pot à coprologie en polystyrène stérile avant tout traitement ultérieur. Les dénombrements et les mesures d'activités bactériennes sont effectués immédiatement. Le reste des sédiments est congelé à -20°C pour les analyses ultérieures des pigments chlorophylliens, du poids sec, de la perte au feu et du carbone organique.

Les prélèvements de la colonne d'eau ont tous été réalisés en sub-surface dans des pots en polystyrène stériles et ont été traités de manière comparable.

B. Dénombrements bactériens

1. Principe

Les dénombrements des effectifs bactériens ont été réalisés par comptage direct de la totalité des cellules bactériennes au moyen de la microscopie en fluorescence (Hobbie *et al.*, 1976). Les bactéries contenues dans l'échantillon (formolé, stocké au froid et à l'abri de la lumière) sont concentrées par filtration sur une membrane et colorées à l'aide d'un fluorochrome, le 4',6-diamidino-2-phenylindol ou DAPI (Porter et Feig, 1980). Il se fixe spécifiquement au niveau de la double hélice de l'ADN entre les paires de bases puriques et pyrimidiques avec lesquelles il établit des liaisons non covalentes formant ainsi un complexe ADN-DAPI. Excité à une longueur d'onde de 365 nm, ce complexe fluoresce en bleu à des longueurs d'ondes supérieures ou égales à 390nm et rend les bactéries observables par microscopie à épifluorescence.

2. Protocole de base sur la colonne d'eau

Un volume d'eau (5 ou 10 ml), formolé immédiatement après le prélèvement, est déposé dans la tourelle de filtration où a été disposé un sous-filtre WHATMAN (membrane en nitrate de cellulose de porosité 0.8µm) puis le filtre NUCLEPORE (membrane en Polycarbonate de porosité 0.2µm) coloré au noir d'Irgalan (permet de diminuer la fluorescence du filtre).

Pour permettre une répartition homogène des bactéries sur le filtre, la filtration s'effectue toujours sous faible dépression (<10 cm de Hg). L'échantillon est filtré jusqu'à laisser 0.5 ml dans la tourelle. Le vide est rompu. L'échantillon reçoit alors 4 gouttes de DAPI 10⁻⁴ (soit une concentration finale 10⁻⁵). Afin d'obtenir une bonne coloration, le DAPI est laissé durant au moins 5 min. avant de terminer la filtration. Le filtre sur lequel se sont déposées les bactéries est découpé puis monté entre lame et lamelle dans de l'huile à immersion non fluorescente.

La lame est observée immédiatement afin de vérifier l'homogénéité de la répartition. A ce stade la lame peut-être stockée à -20°C pour énumération ultérieure. Les bactéries sont ensuite dénombrées sur une surface de référence en microscopie à épifluorescence (LEITZ-DIALUX 20). La lame est observée à l'objectif 100 à immersion (grossissement final 1250) et les bactéries sont dénombrées dans des champs choisis sur le réticule en fonction de la densité de la préparation. Ce réticule contient 10x10 carreaux (1 carreau de référence fait 10µm/10µm). On choisit arbitrairement comme faisant partie des champs les bords supérieur et droit. La numération s'effectue sur environ 400 bactéries autorisant ainsi une précision théorique d'environ 10% (Kirchman *et al.*, 1982). Le déplacement de la lame est réalisé de façon aléatoire.

Le diamètre intérieur de la tourelle est de 1,523 cm, et correspond donc à 1.82 10⁸ carreaux de 10 µm x 10 µm. L'abondance totale (A, en bactéries par litre) est donc déterminée par :

$$A=N / C \times 1.82 \cdot 10^8 \times 1000 / V \quad \text{avec :}$$

N : le nombre total de bactéries comptées, C : le nombre total de carreaux observés (nombre de champs x nombre de carreaux par champs), et V : le volume d'eau filtré en ml.

Les protocoles utilisés dans les sédiments ont été testés et comparés. Cet aspect est développé dans le chapitre III.

C. Production de biomasse bactérienne déterminée par l'incorporation de thymidine

1. Principe

La vitesse d'incorporation de la thymidine dans l'ADN donne une estimation de son taux de synthèse, donc de la productivité d'un peuplement bactérien (Fuhrman et Azam, 1980). 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 (Moriarty, 1986).

La mesure de l'incorporation de [*methyl*-³H]thymidine ou TdR* a été introduite dans le domaine de l'écologie microbienne sédimentaire marine par Moriarty et Pollard (1981). Cette méthode est spécifique pour les bactéries hétérotrophes aérobies. La thymidine kinase est en effet absente chez les algues eucaryotes, les champignons, et les cyanobactéries et chez la plupart des bactéries anaérobies strictes comme les sulfatoréductrices (Moriarty, 1986).

2. Protocole de base sur la colonne d'eau

10 ml d'eau sont incubés immédiatement après le prélèvement avec de la thymidine tritiée (TdR*, Amersham, 46 Ci/mmol) à une concentration finale de 10 nM pendant 60 min. à 30°C. La réaction est arrêtée avec 0.5 ml de formol (30% et thymidine non marquée 10 mM). L'échantillon est alors filtré sur un filtre WHATMAN (membrane en nitrate de cellulose de porosité 0.2 µm) et rincé par de l'eau de mer filtrée. Puis 10 ml d'acide trichloro-acétique ou TCA (5% + thymidine non marquée 1 mM) sont laissés 15 min. en contact avec le filtre. L'échantillon est rincé 4 fois avec 5 ml de TCA. Un dernier rinçage avec 2 ml d'éthanol permet d'éliminer la TdR* mobilisée dans les éléments lipidiques (Wicks et Robarts, 1987). Le filtre est ensuite transféré dans une fiole à scintillation et reçoit 0.5 ml de TCA. Les fioles sont placées 30 min. dans un bain-marie à 100 °C afin d'hydrolyser l'ADN et limiter l'auto-absorption des rayonnements β-. Après refroidissement, les échantillons reçoivent 1 ml d'acétate d'éthyle pour dissoudre le filtre, puis 10 ml de liquide scintillant (Aquasol-2 de NEN Research Products). Le comptage définitif des échantillons est effectué le lendemain afin de limiter les effets de la chimioluminescence. Le compteur à scintillation (Packard TRI-CARB 1000 liquid scintillation analyzer) convertit automatiquement les coups par minutes (cpm) en désintégrations par minute (dpm) au moyen d'un standard externe.

Un témoin est effectué en ajoutant le formol avant la TdR* et est traité de manière identique. Les dpm comptées sur ce blanc sont soustraites des dpm obtenues sur les échantillons.

L'incorporation de thymidine tritiée (TdR inc.) exprimée en mol/l/h est calculée de la manière suivante : $TdR \text{ inc.} = (dpm / 2.22 \cdot 10^{12}) / AS \times (1000 / V) \times (60 / t)$ avec :

dpm : différence entre dpm de l'échantillon et dpm du blanc, $2.22 \cdot 10^{12}$: nombre de dpm par Ci, AS : activité spécifique du traceur (Amersham: AS=46000) en Ci/mole, V : volume d'échantillon en ml, et t : durée d'incubation en min.

Dans les sédiments, un certain nombre de vérifications ou d'adaptations ont été effectuées. Elles sont développées dans le chapitre III.

D. Poids sec et teneur en matière organique

Le poids sec est déterminé sur 2 à 5 ml de sédiments décongelés et séchés pendant 48 heures à l'étuve (60°C).

Les mêmes lots de sédiment sont placés pendant 3 heures à 550°C pour en déterminer le poids calciné.

La perte au feu est définie par la différence entre le poids sec et le poids calciné. Elle peut être exprimée en gramme (g) par ml ou g / g de poids sec et en pourcentage par rapport au poids sec.

La perte au feu n'est qu'une estimation quantitative de la teneur en matière organique des sédiments. Des sous échantillons de sédiments ont été conservés à -20°C pour une analyse ultérieure du carbone organique au moyen d'un analyseur CHN après élimination des carbonates par de l'acide sulfureux (Verardo *et al.*, 1990) .

E. Pigments chlorophylliens

Un volume de 2 ml de sédiment est décongelé et reçoit 5 ml d'acétone (90%). Le mélange est traité aux ultrasons pendant 1 min. (puissance 3/10 et cycle de 50%) puis laissé au minimum 12 heures à - 20°C. L'échantillon est filtré sur un filtre WHATMAN (membrane en nitrate de cellulose de porosité 0.8µm). Le filtrat est passé au fluorimètre pour la détermination de la chlorophylle et des phaeopigments après acidification (Holm-Hansen *et al.*, 1965, Lørenzen, 1967).

III. MISE AU POINT METHODOLOGIQUE

A. Mise au point des dénombrements bactériens dans les sédiments

1. Particularité des bactéries du sédiment

Lors du comptage des bactéries du sédiment, l'attachement des bactéries aux particules doit être pris en compte. Un grand nombre de bactéries sont fixées sur ou dans les particules où se concentrent les nutriments. Ces particules masquent certaines bactéries entraînant une sous-estimation systématique et une difficulté de lecture. La simple dilution permet d'éliminer des particules mais il est nécessaire de détacher les bactéries par un traitement chimique pour minimiser le masquage. Un traitement physique supplémentaire permet la dispersion des bactéries et leur distribution au hasard sur le filtre.

2. Lecture des lames

Un apprentissage de la lecture en épifluorescence a été nécessaire, d'abord sur des prélèvements de la colonne d'eau où les bactéries apparaissent colorées en bleu lumineux sur un fond noir, puis sur des prélèvements de sédiments. La difficulté de la lecture dans les sédiments est due :

1° aux particules plus ou moins nombreuses et plus ou moins grandes qui recouvrent la préparation. Dans le cas d'une préparation trop concentrée en particules, la lame est recommencée à une dilution supérieure.

2° aux objets de taille et de forme bactérienne apparaissant sous une coloration de fluorescence jaune.

Dans les échantillons du lagon de Tahiti, plus la lame était difficile à lire, par la présence de particules réfringentes, plus ces objets jaunes fluorescents étaient abondants. Dans le doute, ces deux types de d'objets fluorescents ont été systématiquement dénombrés sur toutes les lames.

Une seule publication très récente (Epstein et Rossel, 1995) mentionne cette fluorescence jaune. Les auteurs, après l'étude au microscope électronique, rejettent l'hypothèse que ces petites particules fluorescentes jaunes soient d'origine bactérienne vivante et ils les nomment UYO (Unidentified Yellow Objects).

Dans les résultats finaux présentés, seules les bactéries fluorescentes bleues ont donc été prises en compte.

3. Protocoles de détachement publiés

Il n'existe pas de protocole standard utilisé pour tous les types de sédiments.

Le colorant le plus couramment utilisé est le DAPI. Il présente par rapport à l'acridine orange, fluorochrome également utilisé en dénombrement bactérien, l'avantage d'être plus spécifique et permet ainsi de distinguer les bactéries de tout autre matériel non vivant. La sensibilité de la méthode d'observation est ainsi augmentée (Porter et Feig, 1980).

Un traitement chimique par un agent tensioactif comme le Tween 80, le Triton X-100 ou le pyrophosphate de sodium (NaPPI) est utilisé au préalable pour saturer les liaisons entre les bactéries et les particules. Il n'a pas été noté de différence significative entre ces tensioactifs (Epstein et Rossel, 1995). Un traitement physique à la sonde à ultrasons est ensuite appliqué aux sédiments pour détacher les bactéries et fractionner les particules (Velji et Albright, 1985, McDaniel et Capone, 1985, Starink, 1995, Epstein et Rossel, 1995).

Peu de comptages bactériens ont été effectués dans les sédiments coralliens (Moriarty, 1986, Hansen *et al.*, 1987, Johnstone *et al.*, 1990, Hansen *et al.*, 1992, Pollard et Kogure, 1993) et tous les auteurs utilisent un traitement à l'acide acétique (10 ou 20 %) pour éliminer les carbonates suivi d'un broyage à l'Ultraturrax (entre 1 et 5 min.) pour disperser les agrégats et une coloration à l'acridine orange. Ce traitement par l'acide acétique présente l'avantage d'être le même que celui employé pour les dosages d'activité et permet ainsi de compter les bactéries sur les mêmes échantillons en supprimant les biais de sous-échantillonnage.

Dans les 4 zones d'étude, les sédiments sont de nature variée, de la vase terrigène au sable corallien, nous obligeant à tester la méthode la plus adaptée.

4. Comparaison de deux protocoles

Les deux protocoles disponibles ont été testés sur les deux types de sédiment que l'on peut considérer comme les plus éloignés, la vase (sédiment fin de nature basaltique) du chenal d'Arue et le sédiment corallien grossier du récif barrière d'Arue.

a) méthode au pyrophosphate de sodium (NaPPI) et passage au ultrasons (US)

C'est la méthode la plus couramment employée (Velji et Albright, 1985, Starink, 1995, Epstein et Rossel, 1995, Kaplan *et al.*, 1992).

Deux ml de sédiments reçoivent 20 ml de NaPPI (10 mM formolé à 2% final) et sont laissés au moins 20 minutes à 4°C. Les échantillons sont ensuite traités au moyen d'une sonde à ultrasons (Vibracell, 600W: fréquence 20 kHz, diamètre de la sonde 3 mm, amplitude 190 µm). La puissance de sortie est fixée à 4/10 et les ultrasons ne sont émis que par intermittence (50% du cycle actif) afin de limiter l'échauffement des échantillons.

Différents temps de passage aux ultrasons ont été testés: 0, 60, 120, 180, 300 secondes (Fig. 2). Après traitement aux US, un volume brut de 20µl ou dilué 10 fois (selon la richesse en bactéries) est concentré puis coloré dans la tourelle de filtration comme pour les échantillons

de la colonne d'eau. Le DAPI est utilisé à la concentration finale de 10^{-5} (g/g). Des essais avec une concentration 10 fois supérieure n'ont pas conduit à des résultats différents (non montré).

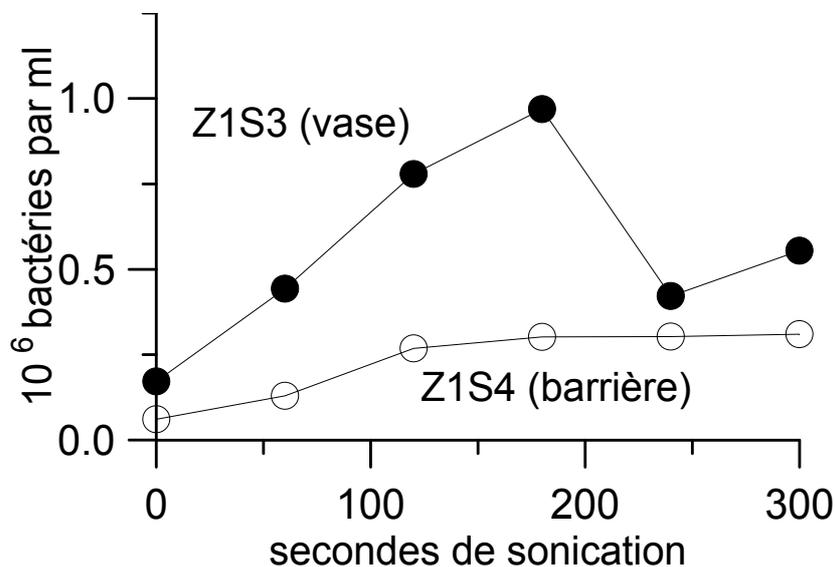


Figure 2 : Influence des durées de sonication sur les dénombrements bactériens.

Le temps de passage aux ultrasons a une influence sur le nombre de bactéries sur les deux types de sédiment. On dénombre après 180 s de sonication environ 5 fois plus de bactéries qu'en l'absence de sonication pour les deux types de sédiment.

La décroissance au delà de 180 s montre qu'un excès d'ultrasons peut lyser une partie des bactéries de la vase basaltique du chenal.

L'optimum de sonication est donc de 180 s pour les deux types de sédiment. Cette durée a été employée pour toutes les déterminations ultérieures.

b) Méthode à l'acide acétique (AA) et broyage à l'Ultraturrax (UT).

C'est la méthode utilisée sur les sédiments coralliens (Moriarty, 1986, Hansen *et al.*, 1987, Johnstone *et al.*, 1990, Hansen *et al.*, 1992, Pollard et Kogure, 1993).

2 ml de sédiments sont additionnés d'acide acétique pour une concentration finale de 10% et sont laissés une nuit à 4°C sans couvercle afin d'autoriser la dissolution complète des carbonates. Les échantillons sont ensuite traités à l'Ultraturrax. Différents temps de broyage ont été testés : 0, 2 et 5 min. (Tab. 1). Les lames sont préparées de la manière décrite précédemment.

Tableau 1 : Influence du broyage à l'Ultraturrax (20 000 rpm) après traitement à l'acide acétique sur l'abondance bactérienne. Comparaison avec le traitement au NaPPI + ultrasons

Echantillon	traitement	bleues	bleues	bleues	jaunes	jaunes	jaunes
		Dupl. 1	Dupl. 2	moyenne	Dupl. 1	Dupl. 2	moyenne
Z1S5	NaPPI + US 90s	0.814	0.649	0.732	1.565	1.820	1.692
Z1S5	AA + 0 min. UT	0.000	0.000	0.000	0.137	0.143	0.140
Z1S5	AA + 2 min. UT	0.000	0.000	0.000	0.205	0.244	0.225
Z1S5	AA + 5 min. UT	0.000	0.000	0.000	0.157	0.148	0.153
Z1S4	NaPPI + US 90s	0.379	0.370	0.374	0.460	0.452	0.456
Z1S4	AA + 0 min. UT	0.021	0.028	0.024	0.112	0.129	0.121
Z1S4	AA + 2 min. UT	0.026	0.024	0.025	0.189	0.131	0.160
Z1S4	AA + 5 min. UT	0.031	0.024	0.027	0.107	0.137	0.122

Dans le sable corallien, les abondances varient peu avec la durée du broyage et sont 15 fois inférieures à celles déterminées en utilisant le traitement au NaPPI. Pour les sédiments vaseux, le traitement fait disparaître toutes les bactéries bleues.

c) Comparaison entre les 2 méthodes testées

Les abondances obtenues par le traitement à l'acide acétique sont donc très inférieures à celles employant le traitement au NaPPI (Tab. 1). Deux explications sont *a priori* possibles : une inadaptation de la coloration au DAPI après traitement à l'acide acétique ou bien une lyse bactérienne par l'acide acétique. Des tests effectués pour les dosages d'activité ont montré que la première explication est la plus vraisemblable.

Le protocole retenu dans ce travail est donc le traitement par NaPPI + US.

5. Reproductibilité des dénombrements bactériens des sédiments.

Des *duplicata* d'échantillons ont été réalisés systématiquement au début du travail afin de déterminer la variabilité de la méthode comprenant le sous-échantillonnage, l'extraction, la filtration et le comptage. (Tab. 2).

Tableau 2 : Ecart relatif (différence rapportée à la moyenne en %) entre 2 déterminations indépendantes d'un même échantillon de sédiment. L'écart concerne toutes les opérations successives c'est à dire le sous-échantillonnage, le détachement, la filtration et le comptage. En moyenne 83 bactéries bleues et 307 objets fluorescents (bleus et jaunes) ont été dénombrés par préparation. aa : acide acétique, UT : Ultraturrax, US : Ultrasons.

ECHANTILLON et TRAITEMENT	date	bleues + jaunes 10 ⁹ bact/ml		bleues 10 ⁹ bact/ml		bleues + jaunes Ecart (%)	bleues Ecart (%)
		répl. 1	répl. 2	répl. 1	répl. 2		
Z1S2 PPI + US 90s	15-fév-95	2.38	2.47	0.407	0.324	4	23
Z1S4 PPI + US 90s	17-fév-95	0.84	0.82	0.190	0.185	2	3
Z1S4 aa + 0 min UT	16-fév-95	0.13	0.16	0.010	0.014	17	30
Z1S4 aa +2 min UT	16-fév-95	0.22	0.16	0.013	0.012	32	6
Z1S4 aa +5 min UT	17-fév-95	0.14	0.16	0.015	0.012	16	24
Z1S4 aa +2 min UT	16-fév-95	0.16	0.17	0.012	0.008	7	35
Z1S4 PPI +30 s	22-fév-95	0.47	0.43	0.068	0.062	9	9
Z1S4 PPI +60s	23-fév-95	0.60	0.59	0.148	0.120	2	21
Z1S4 PPI +90s	23-fév-95	0.76	0.82	0.159	0.143	8	11
Z1S4 PPI +120s	23-fév-95	0.64	0.84	0.174	0.128	27	30
Z1S4 PPI +150s	23-fév-95	0.56	0.69	0.104	0.206	21	66
Z1S3 PPI +90s	23-fév-95	1.85	1.95	0.092	0.079	5	15
Z1S3 PPI +30s	23-fév-95	2.21	2.33	0.241	0.202	6	18
Z1S3 PPI +60s	23-fév-95	3.10	2.45	0.535	0.243	24	75
Z1S3 PPI +90s	23-fév-95	3.23	2.84	0.665	0.304	13	75
Z1S3 PPI +150s	23-fév-95	1.99	1.24	0.361	0.193	46	61
Z1S4 PPI +90s	27-fév-95	3.65	4.17	0.225	0.152	13	39
Z1S2 PPI +90s	28-fév-95	6.88	7.69	0.683	0.559	11	20
Z3S4 PPI +90s	10-mar-95	0.46	0.48	0.20	0.21	4	8
Z3S3 PPI +90s	10-mar-95	2.36	1.88	0.50	0.34	23	37
Z3S2 PPI +90s	13-mar-95	4.14	4.09	0.69	0.66	1	5
Z3S1 PPI +90s	13-mar-95	3.62	3.26	0.50	0.41	11	18
Z1S4 PPI +90s	10-mar-95	0.76	0.82	0.32	0.29	8	11
Z1S3 PPI +90s	10-mar-95	6.88	7.69	1.37	1.12	11	20
Z1S5 PPI +90s	13-mar-95	3.23	2.84	1.33	0.61	13	75
Z1S1 PPI +90s	13-mar-95	3.65	4.17	0.45	0.30	13	39
moyenne						13	30

Les résultats montrent que l'écart moyen entre deux préparations indépendantes est de 30%. L'écart moyen sur le nombre total de particules fluorescentes (bleue et jaune) n'est que de 17 % en raison du plus grand nombre d'objets comptés.

B. Mise au point de la mesure de production bactérienne dans les sédiments

1. Protocoles disponibles

Un choix s'impose entre homogénéiser le sédiment avec le traceur (méthode "slurry") ou injecter le traceur directement dans la carotte de prélèvement (méthode "core") afin de moins perturber les sédiments. La comparaison entre les deux méthodes donne des résultats similaires (Moriarty et Pollard, 1981, Kaplan *et al.*, 1992). Le mode "slurry" présentant l'avantage de donner des résultats moins variables a été utilisé au cours de cette étude. En effet la méthode "core", en ne perturbant pas les sédiments, présente l'inconvénient d'une mauvaise répartition du traceur au sein de la carotte.

2. Méthode de base (Moriarty, 1986)

Une quantité déterminée de traceur est ajoutée à une quantité fixée de sédiment et incubée à la température *in situ* (30°C) pendant une durée précise. L'incubation est arrêtée par l'apport de 5 ml d'un mélange éthanol-eau (80%-20%) contenant de la thymidine non marquée (10 mM). A ce stade le stockage à 4°C est possible pendant 24 heures. Le mélange éthanol-eau contenant de la thymidine marquée non incorporée est éliminé par centrifugation à 10 000 rpm (2000 g) pendant 10 min. L'opération est répétée plusieurs fois afin d'éliminer le maximum de traceur non incorporé.

Les sédiments coralliens subissent un traitement à l'acide acétique jusqu'à la fin de l'effervescence. Après le dernier rinçage, 2 ml du mélange éthanol-eau-thymidine non marquée sont ajoutés et les échantillons sont filtrés sur une membrane WHATMAN (en nitrate de cellulose, de porosité 0.2 µm). Le filtre est transféré dans un flacon en verre avec 2 ml de TCA (5%) contenant de la thymidine non marquée (1 mM). Ce flacon est chauffé au bain marie à 100 °C pendant 30 min. Après refroidissement, le liquide contenu dans la fiole est filtré sur une membrane WHATMAN (en nitrate de cellulose de porosité 0.2 µm) et 1 ml de ce filtrat est placé dans une fiole à scintillation avec 10 ml de liquide scintillant pour comptage.

Un blanc est effectué conjointement en ajoutant 5 ml du mélange éthanol-eau-thymidine non marquée avant le traceur.

3. Mise au point sur les sédiments du lagon de Tahiti

a) Quantité de sédiment

La quantité de sédiment doit être la plus petite possible (quantité de sédiment limitée aux 5 carottes prélevées et limitation de la quantité de traceur radioactif), tout en restant reproductible. Nous avons donc dans un premier temps effectué une étude de reproductibilité par rapport au poids humide, de quantités minimales de sédiments avec différentes seringues sur deux sédiments types : le sable corallien du récif barrière d'Arue et la vase du récif frangeant > 1 m à Arue. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec des seringues sans joint de 1 ml et 2.5 ml (Tab. 3).

Tableau 3 : Variabilité du sous échantillonnage des sédiments d'Arue effectué au moyen de seringues sans joint de 2 ml (Z1S4) et 1 ml (Z1S5) déterminée par le poids humide (en g).

Station	Z1S4	Z1S5
Volume prélevé	0.5ml	0.2ml
1	0.830	0.332
2	0.899	0.362
3	0.844	0.349
4	0.877	0.316
5	0.779	0.276
6	0.745	0.349
7	0.823	0.304
8	0.847	0.374
9	0.861	0.452
10	0.789	0.280
11		0.333
12		0.300
13		0.317
14		0.311
15		0.327
Moyenne	0.830	0.332
Erreur standard	0.015	0.011
E. standard (%)	1.8 (a)	3.4 (b)

(a) : Soit 2.5% avec 5 réplicats en récif barrière (Z1S4).

(b) : Soit 5.9% avec 5 réplicats en récif frangeant > 1 m (Z1S5).

Les quantités retenues sont donc 0.2 ml pour les vases et 0.5 ml pour les sables coralliens. Ces faibles volumes permettent d'économiser le traceur en conservant une précision raisonnable du volume échantillonné.

b) Optimisation du nombre de rinçages par le mélange éthanol-eau-thymidine non marquée

Des dosages de radioactivité ont été effectués sur les surnageants de rinçage au cours des quatre lavages de 5 ml. La quantité de radioactivité diminue rapidement avec le nombre de rinçages et montre que le quatrième rinçage n'est pas nécessaire (Fig. 3).

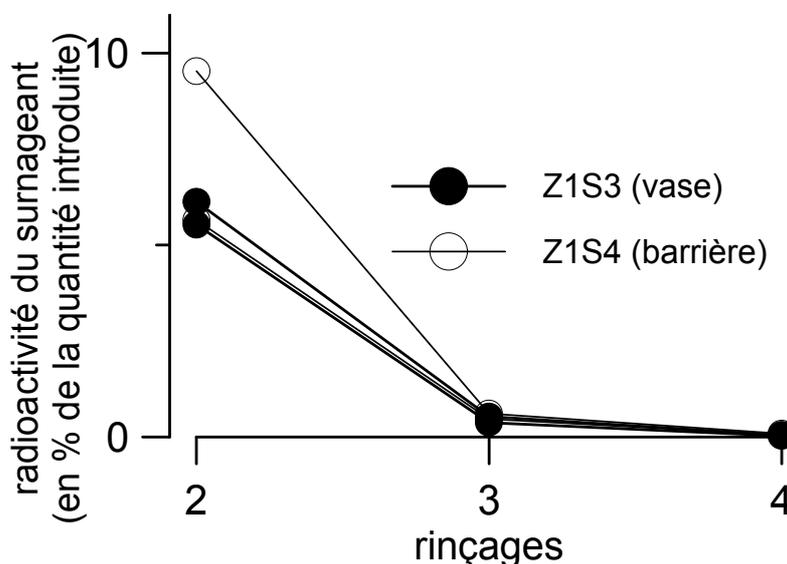


Figure 3 : Activités retrouvées dans les rinçages successifs à l'éthanol.

c) Traitement par l'acide acétique à 20 %

Afin d'éliminer les carbonates qui perturberaient la précipitation des macromolécules par le TCA, les sables coralliens subissent deux lavages à l'acide acétique à 20 % de 8 ml pendant 48 heures, après un premier lavage classique à l'éthanol (80%) et thymidine (10 mM). Les sédiments basaltiques n'ont pas besoin de subir ce traitement. Pour vérifier s'il existe une différence entre ces deux traitements, deux types de sédiments (sable corallien du récif barrière d'Arue et vase du chenal d'Arue) les ont subi simultanément.

Tableau 4 : Effet du traitement à l'acide acétique sur les activités obtenues (en dpm/ 0.5 et 0.2 ml/ 30 min.)

	station	date	dpm	traitement
Z5S1	Mahaena frangeant < 1m	25/04/95	17292	avec acide
Z5S1	Mahaena frangeant < 1m	25/04/95	nd	avec acide
Z5S1	Mahaena frangeant < 1m	25/04/95	17217	sans acide
Z5S1	Mahaena frangeant < 1m	25/04/95	18025	sans acide
Z2	Port	03/05/95	31934	avec acide
Z2	Port	03/05/95	38933	avec acide
Z2	Port	03/05/95	28649	sans acide
Z2	Port	03/05/95	35179	sans acide

Les activités incorporées montrent qu'il n'existe pas de différence induite par l'un ou l'autre traitement. L'absence de traitement par l'acide acétique des échantillons carbonatés conduit toutefois à une effervescence forte lors de la précipitation au TCA dans les tourelles avec un risque de perte de l'échantillon.

d) Durée de l'incubation

La linéarité de l'incorporation au cours du temps permet de vérifier que les conditions de mesure ne perturbent pas le phénomène que l'on prétend observer. Il est donc important de se placer dans une durée d'incubation où l'incorporation est linéaire. D'un autre côté, des durées d'incubation plus longues conduisent à une meilleure précision du comptage final de radioactivité (différence plus importante entre signal et témoin).

En fixant arbitrairement une concentration finale 6 μM de traceur, les temps d'incubation de 0 à 45 min. ont été testés (Fig. 4).

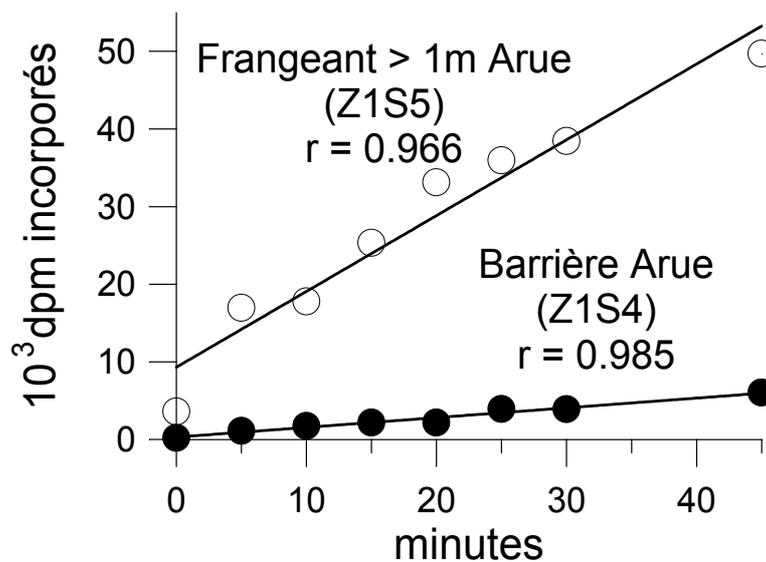


Figure 4 : Evolution de l'incorporation de TdR* au cours du temps.

L'incorporation est linéaire pendant au moins 45 min. Toutes les mesures ultérieures ont donc été effectuées à 30 min. afin de garder une marge de sécurité.

e) Recherche de la concentration saturante du traceur

Lorsqu'on utilise une concentration saturante de TdR*, la synthèse *de novo* est inhibée et on minimise ainsi la dilution isotopique au niveau de la synthèse d'ADN (Moriarty, 1986).

Pollard et Moriarty (1984) préconisent une concentration de traceur de 3 μM afin d'obtenir une concentration saturante et d'éviter la dilution isotopique.

L'influence des concentrations de traceur (0 à 6 μM) sur la vitesse d'incorporation a été mesurée sur deux types de sédiments (sable corallien du récif barrière d'Arue et vase du chenal d'Arue, Fig. 5).

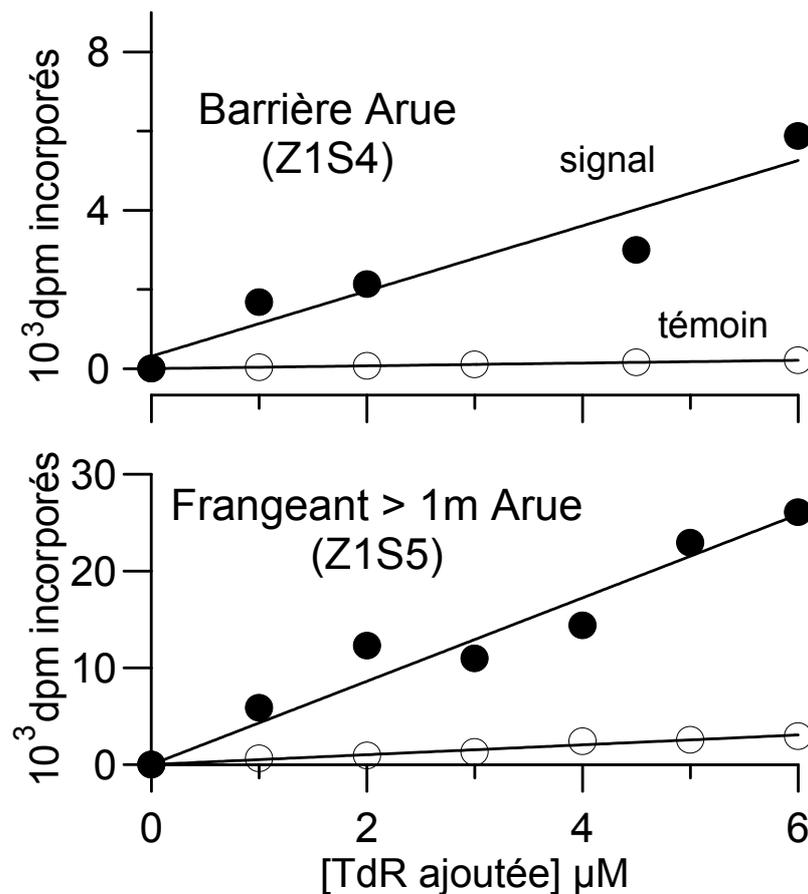


Figure 5 : Influence de la concentration en TdR* sur la vitesse d'incorporation.

La saturation de l'incorporation du traceur n'est pas obtenue même à la concentration de 6 μM . La linéarité des graphes montre que cette saturation, si elle existe, serait obtenue à de très fortes concentrations de traceur. Toutefois, la concentration du traceur ne peut être augmentée indéfiniment. Sa quantité est limitée et il y a risque de perte de la spécificité bactérienne à forte concentration (Kaplan *et al.*, 1992).

Il est donc préférable de maintenir la concentration de traceur à quelques μM et d'estimer systématiquement la dilution isotopique.

f) Dilution isotopique

L'étude de la dilution isotopique a pour objectif de déterminer le degré de participation de la TdR* exogène à la synthèse de l'ADN. Cette méthode classique en biochimie a été appliquée par Pollard et Moriarty (1984) aux mesures de production bactérienne dans les sédiments.

Le principe est le suivant:

Une quantité fixe de TdR* (L) est ajoutée à une série de sédiment. Des quantités croissantes de TdR non marquée (A) sont ajoutées à cette série. Considérant que le taux de la synthèse *de novo* est constant lors de l'augmentation de la concentration de la TdR froide, le *pool* de dilution isotopique peut-être déterminé suivant l'expression :

$$V_{obs} / V_{max} = L / (L + P + A).$$

Avec : L : concentration de TdR* ajoutée (μM), A : concentration de TdR froide ajoutée en (μM), P : *pool* de dilution recherché (μM), V_{obs} : radioactivité incorporée mesurée, V_{max} : radioactivité incorporée corrigée de la dilution isotopique.

L'expression peut être transformée en $L + A = (L \times V_{max}) \times 1 / V_{obs} - P$ qui est de la forme $y = ax + b$.

En représentant un graphique où l'abscisse (x) est: $1/V_{obs}$ et l'ordonnée (y) : $L + A$, on obtient une droite qui coupe l'axe des ordonnées au point - P et la pente de cette droite est $L \times V_{max}$.

Cette méthode a été appliquée à tous les échantillons de sédiment en utilisant une concentration finale de TdR* de $2\mu\text{M}$ et des concentrations croissantes de 0 à $25\mu\text{M}$ de TdR froide.

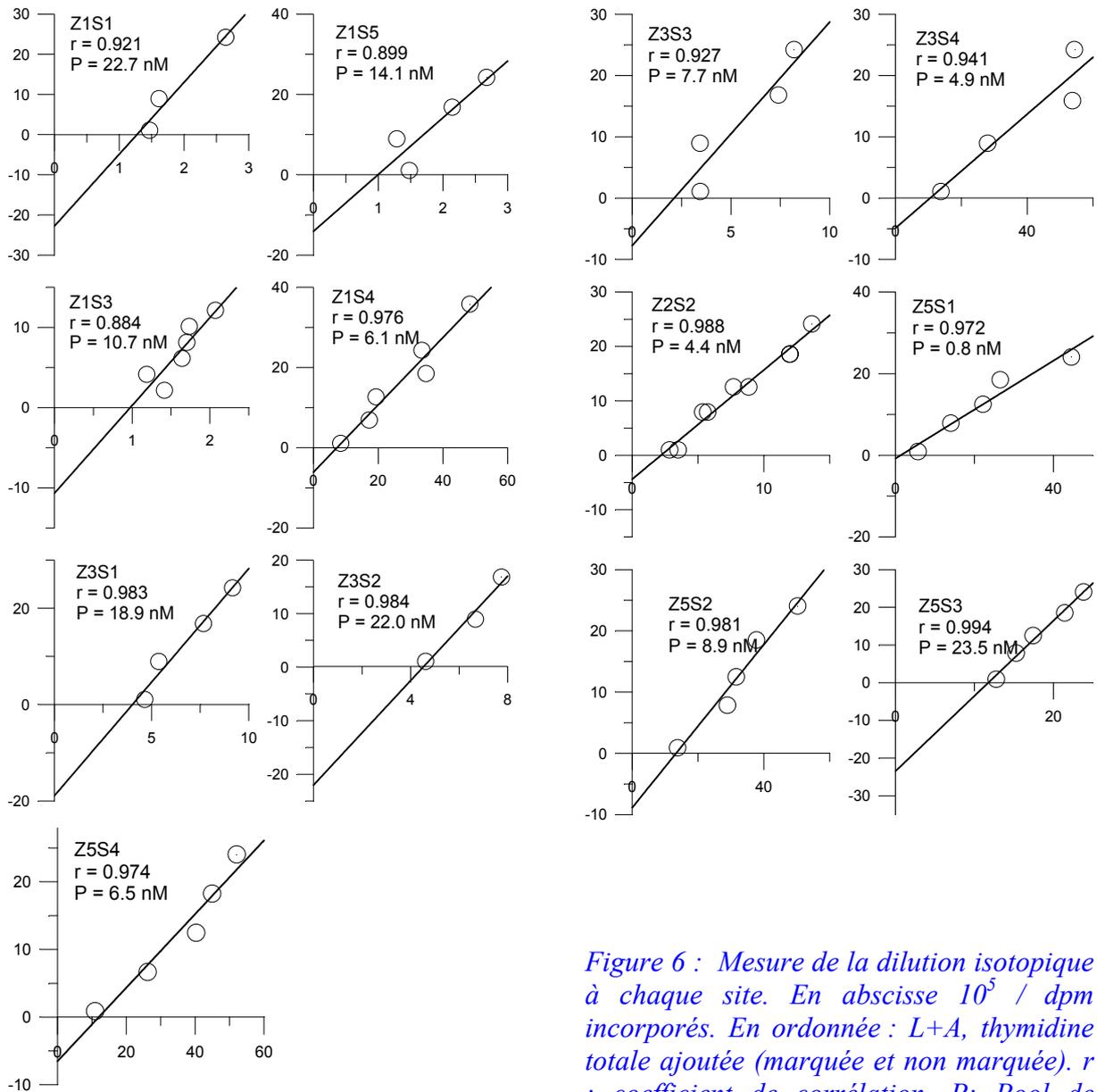


Figure 6 : Mesure de la dilution isotopique à chaque site. En abscisse $10^5 / \text{dpm}$ incorporés. En ordonnée : L+A, thymidine totale ajoutée (marquée et non marquée). r : coefficient de corrélation. P : Pool de dilution (- ordonnée à l'origine).

Les *pools* de dilution varient fortement selon les stations avec des valeurs extrêmes de 0.8 (Z5S1) et 23.5 nM (Z5S3). Ces fortes variations montrent l'utilité de les déterminer systématiquement et de corriger d'autant les valeurs d'incorporation.

g) Efficacité d'extraction

Les particules sédimentaires adsorbant le traceur hydrolysé n'autorisent pas l'extraction complète de celui-ci. Il est donc nécessaire de déterminer l'efficacité d'extraction de l'ADN marqué liée à la procédure utilisée.

Une culture bactérienne en croissance reçoit de la TdR*. En fin de culture, les bactéries sont concentrées par centrifugation et leur marquage est déterminé. Les bactéries sont congelées à -20°C pour une utilisation différée. Cette suspension bactérienne, une fois décongelée et homogénéisée aux ultrasons, est ajoutée en quantité égale dans un prélèvement de la colonne d'eau et dans les sédiments. Tous les échantillons sont traités comme énoncé précédemment. La référence (100% d'efficacité) est la valeur extraite de l'échantillon de la colonne d'eau. (Tab. 5).

Tableau 5 : Efficacité d'extraction de l'ADN marqué aux différentes stations (30-05-94).

Quantité introduite 27075 dpm

station	dpm extraits (moyenne)	Efficacité (%) (a)	Ecart (%) (b)
Z1S1	707	2.61	2
Z1S5	392	1.45	10
Z1S3	192	0.71	2
Z1S4	1910	7.06	5
Z2	262	0.97	10
Z3S1	583	2.15	-
Z3S2	847	3.13	12
Z3S3	899	3.32	21
Z3S4	2045	7.55	7
Z5S1	346	1.28	2
Z5S2	594	2.19	1
Z5S3	549	2.03	2
Z5S4	1289	4.76	8
	moyenne	3.02	7
	écart-type	2.19	6

(a) : $\text{dpm extraits} / 27075 \times 100$

(b) : écart entre répliqués ramené à la moyenne

L'efficacité d'extraction (EE) de l'ADN des sédiments est assez variable selon le site et en moyenne très faible. En effet, les auteurs ayant utilisé une procédure comparable trouvent environ 70 % (Kaplan *et al.*, 1992 et Findlay *et al.*, 1984).

Les valeurs d'incorporation de TdR* obtenues pour chaque sédiment ont donc été corrigées en fonction de ces efficacités d'extraction. Il conviendra toutefois de vérifier ces faibles rendements d'extraction en ajoutant aux sédiments une quantité connue d'ADN marqué commercialisé.

h) Variabilité des mesures d'incorporation.

Cette variabilité a été calculée sur les mesures de dilutions isotopiques en recalculant chaque V max à partir de P, le *pool* de dilution isotopique (Tab. 6).

Tableau 6 : Variabilité des N répliqués d'incorporation de thymidine pour un même lot de sédiment.

Ech.	DATE	N	Moyenne (DPM)	Erreur Standard (DPM)	Erreur Standard (%)
Z1S3	21/03/95	6	31350	2658	8
Z1S4	21/03/95	6	4138	322	8
Z1S1	21/04/95	4	1874187	221949	12
Z1S5	21/04/95	4	1321310	145426	11
Z1S3	21/04/95	6	509539	23284	5
Z1S4	21/04/95	6	77972	3705	5
Z2	03/05/95	5	205468	8034	4
Z2	03/05/95	5	208078	15664	8
Z3S1	25/04/95	4	437747	16966	4
Z3S2	25/04/95	4	490638	36837	8
Z3S3	25/04/95	4	340455	45269	13
Z3S4	25/04/95	4	42934	3065	7
Z5S1	25/04/95	5	62071	7945	13
Z5S2	27/04/95	5	74261	2851	4
Z5S3	27/04/95	6	212138	9852	5
Z5S4	27/04/95	5	61964	3983	6
	Moyenne	5			7
	Ecart-type	1			3

L'erreur standard des mesures effectuées représente 13 % de la moyenne dans le cas le plus défavorable. Elle est en moyenne de 7 % sur 5 répliqués.

i) Calcul de l'incorporation en moles de TdR*

L'incorporation de thymidine tritiée (TdR inc.) exprimée en mol/l/h est calculée de la manière suivante : $TdR \text{ inc.} = V \text{ max} / (2.22 \cdot 10^{12} \times AS) \times (1000 / V) \times (60 / t) \times 100 / EE$ avec :
V max : calculé par rapport à la pente ($V_{\text{max}} = \text{pente} / L$) en DPM, $2.22 \cdot 10^{12}$: nombre de DPM par Ci, AS : activité spécifique du traceur en Ci/mole (Amersham, AS = 46000), V : volume d'échantillon en ml, t : durée d'incubation en min. et EE : efficacité d'extraction en %.

j) Extrapolation en terme de production bactérienne. Evaluation du temps de génération²

Il est nécessaire d'utiliser des facteurs de conversion pour transformer les moles de thymidine incorporées en production bactérienne. Dans l'état actuel des connaissances dans ce domaine, ces facteurs ne sont qu'indicatifs. Les facteurs de conversion utilisés sont variables selon les auteurs : $2 \cdot 10^{18}$ cellules / mole (Moriarty, 1986), $1 \cdot 10^{18}$ (Moriarty, 1988) ou $0,5 \cdot 10^{18}$ (Moriarty, 1990, Alongi, 1992). La valeur intermédiaire $1 \cdot 10^{18}$ a été utilisée dans ce travail. En utilisant une teneur en carbone de 20 fgC / cellule (Lee et Fuhrman, 1987), le facteur de conversion devient 20 000 gC bactérien produits par mole de TdR incorporée. D'autres valeurs sont utilisées dans la littérature, de 15 000 (Moriarty, 1985) à 40 000 (Pollard et Kogure, 1993).

La production de biomasse bactérienne peut être exprimée en cellules ou en gC / ml ou g de sédiment / heure. Si l'on admet que le compartiment bactérien est en équilibre dynamique, le taux de croissance bactérienne (h^{-1}) est la production divisée par la biomasse, et le temps de génération est l'inverse du taux de croissance (h).

C. Optimisation du nombre de carottes par station

La faible variabilité des mesures d'incorporation de TdR* (erreur standard de 7 % en moyenne pour 5 déterminations d'un même échantillon) a permis d'évaluer l'imprécision due à l'échantillonnage dans les deux stations les plus extrêmes : le chenal d'Arue et le récif barrière d'Arue.

Entre 10 et 12 carottes ont été prélevées dans une zone de 10 x 10 mètres pour des dosages d'activité bactérienne. L'évaluation du nombre de carottes (n) pour obtenir la précision désirée (D, erreur standard ramenée à la moyenne) est définie par $n = (\text{écart-type})^2 / (D \times \text{moyenne})^2$ (Eliott et Decamps, 1977).

Tableau 7: Variabilité de l'incorporation de thymidine due aux carottages à Arue dans le chenal (Z1S3) et au récif barrière (Z1S4). dpm incorporés en 30 minutes par 0.2 ml (Z1S3) ou 0.5 ml (Z1S4).

	Z1S3 dpm	Z1S4 dpm
1	16862	3675
2	19638	4328
3	28147	3838
4	33100	4307
5	22040	3616
6	25932	3148
7	25230	6609
8	18096	4640
9	22213	3362
10	23657	3513
11		5397
12		5390
Moyenne	23491	4319
Erreur standard	1544	298
E. standard (%)	7	7

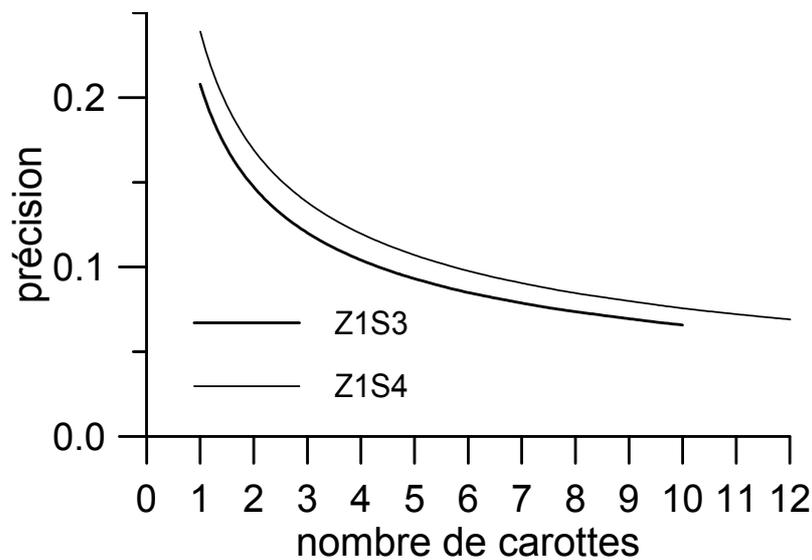


Figure 7 : Evolution de la précision de l'échantillonnage en fonction du nombre de carottes prélevées.

Les résultats (Tab. 7, Fig. 7) montrent qu'une précision de 10 % est atteinte dès 4 carottes dans le chenal et 6 carottes en barrière. Avec 5 carottes par échantillon la précision ainsi définie est de 9 % dans le chenal et de 11 % en barrière.

IV. RESULTATS IN SITU

L'objectif de ce travail est la mise au point des techniques sur les sédiments du lagon de Tahiti et leur application à quelques sites afin d'évaluer s'il existe une relation entre la biomasse et / ou la production bactérienne et le contenu en matière organique des sédiments. Les données *in situ* sont trop peu nombreuses pour prétendre décrire de manière exhaustive le milieu. Néanmoins leur interprétation permet d'éclairer certains phénomènes.

Les résultats sont présentés en figures 8 (Abondance), 9 (Production) et 10 (Perte au feu).

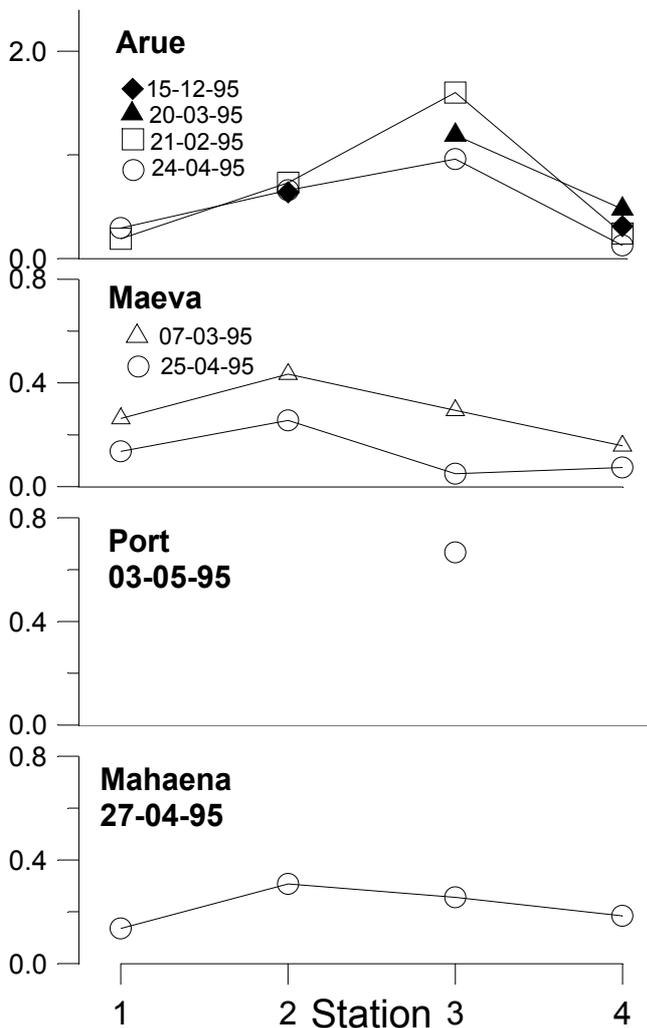


Figure 8 : Evolution de l'abondance bactérienne (10^9 cellules / g poids sec) le long des radiales.

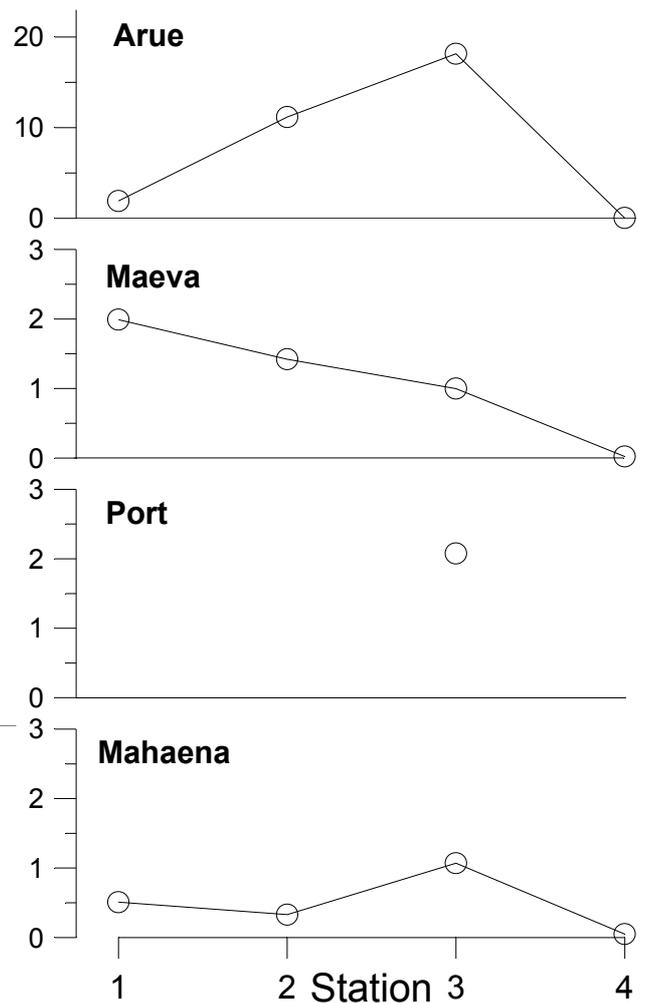


Figure 9 : Evolution de la production bactérienne ($\mu\text{mol TdR/ g poids sec / h}$) le long des radiales.

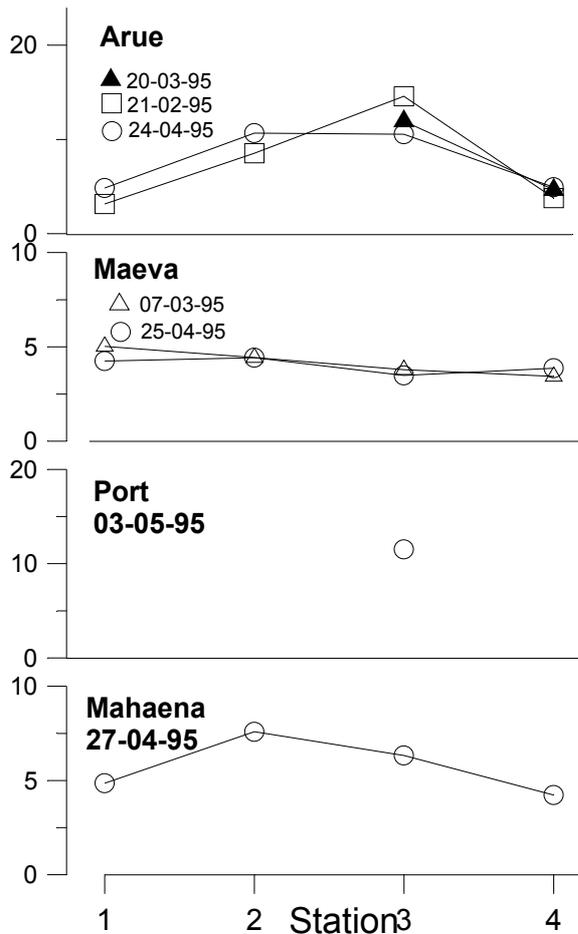


Figure 10 : Evolution de la matière organique estimée par la perte au feu (%) le long des radiales.

A. Variations dans le temps

Deux zones seulement ont pu être visitées au moins deux fois (Arue et Maeva) pour réaliser les analyses de l'abondance et de la perte au feu.

Les valeurs de perte au feu obtenues en février, mars et avril ne montrent pas de différence avec celles obtenues aux mêmes stations par P. Frouin (travail de thèse en cours) entre mai 1993 et janvier 1995. La teneur en matière organique des sédiments est stable, probablement parce qu'elle intègre toutes les structures organiques, des plus stables au plus labiles.

Les valeurs d'abondance varient légèrement au sein d'un même site. Le coefficient de variation dans le temps est de 19 % en moyenne sur toutes les stations d'Arue. Ces différences correspondent à une diminution au niveau du chenal d'Arue entre le 14/12/1994 et le 24/04/1995. L'évolution à Maeva suit la même tendance, c'est à dire diminue entre les prélèvements du 07/03/1995 et du 25/04/1995.

Malgré la variabilité temporelle intra-stations, les différences inter-stations conservent la même tendance.

B. Comparaisons entre les zones et les stations

Toutes les valeurs observées à Mahaena sont les plus faibles (Fig. 8, 9 et 10). Ce site témoin non pollué trouve là sa justification comme site de référence.

Pour chacune des 3 zones toutes les stations en barrière présentent des valeurs comparables d'abondance (moyenne $0.26 \cdot 10^9$ cell/g \pm erreur standard 0.07, n=7), de production (38 ± 7 pmol/ml/h, n=3) et de perte au feu ($4.15 \% \pm 0.23$, n=6) et parmi les plus faibles dans chaque zone. Aucune perturbation n'est donc perceptible sur les paramètres bactériens mesurés au niveau des récifs barrières.

Les radiales (Fig. 8, 9 et 10) montrent des évolutions différentes du récif frangeant moins d'un mètre au récif barrière selon la zone. La proximité d'une rivière, drainant plus ou moins d'apports organiques en fonction de sa localisation, et le degré d'anthropisation des frangeants semblent être des facteurs déterminants.

Sur la zone de Maeva : la perte au feu et l'incorporation de TdR* décroissent du frangeant moins d'un mètre au récif barrière. Cette stratification semble due à la proximité de la rivière drainant des zones urbanisées. Les abondances suivent grossièrement ce profil avec toutefois des valeurs plus faibles en frangeant moins d'un mètre qu'en frangeant plus d'un mètre.

Sur la zone d'Arue : les valeurs d'abondance, d'incorporation de TdR* et de perte au feu augmentent du frangeant moins d'un mètre au chenal. Ces valeurs y atteignent leur maximum. Cette zone n'est pas sous l'influence directe d'une rivière. L'essentiel des apports organiques transite probablement par le chenal. L'eutrophisation du frangeant moins d'un mètre est perceptible.

A Mahaena : la perte au feu et l'abondance covarient. Elles augmentent du récif frangeant moins d'un mètre au récif frangeant plus d'un mètre et décroissent ensuite vers le récif barrière. L'incorporation de TdR* est par contre maximale au niveau du chenal. La rivière, située en zone non urbanisée, n'a vraisemblablement pas une influence aussi marquée que dans la zone de Maeva.

Au Port : la valeur de perte au feu (11.5%), de l'ordre de celles déterminées à Arue, montre que ce site est eutrophisé. Curieusement l'abondance et la production y sont moins élevées qu'à Arue. Des polluants industriels pourraient y inhiber les activités bactériennes.

C. Comparaison entre le sédiment et la colonne d'eau

Au total, 21 échantillons de colonne d'eau prélevés le 21 janvier 1995 et le 28 mars 1995 dans le lagon (Fig. 11).

Tableau 8 : Abondances et productions bactériennes déterminées dans la colonne d'eau

station	Production	abondance	Temps de	abondance
	pmol TdR /l/h mars 95	10 ⁶ /ml mars 95	génération (jour) mars 95	10 ⁶ /ml jan 95
Océan 0	2.80	0.533	9.9	0.343
7	2.54	0.258	5.3	0.321
13	2.96	0.304	5.3	0.330
4	2.99	0.229	4.0	0.278
31	3.75	0.304	4.2	0.431
Influence océanique	3.06	0.27	4.71	0.34
moyenne				
écart-type	0.25	0.02	0.35	0.03
27	5.37	0.291	2.8	1.346
30	5.94	0.410	3.6	1.328
16	6.05	0.392	3.4	0.348
26	7.12	0.307	2.2	7.386
20	8.06	0.425	2.7	0.439
15	8.38	0.445	2.8	0.385
11	8.89	0.478	2.8	10.178
12	9.66	0.397	2.1	0.504
3	10.79	0.473	2.3	0.255
6	10.98	0.509	2.4	0.893
22	12.52	0.493	2.0	2.617
1	12.80	0.313	1.3	1.478
Lagon « typique »	8.88	0.411	2.54	2.26
moyenne				
écart-type	0.73	0.022	0.18	0.92
21	19.33	0.643	1.7	1.540
23	25.26	0.380	0.8	12.489
10	43.69	0.592	0.7	0.669
8	51.76	0.723	0.7	0.439
Lagon eutrophe	35.01	0.58	0.99	3.78
moyenne				
écart-type	7.62	0.07	0.25	2.91

Figure 11 : Emplacement des stations colonne d'eau dans le lagon de Tahiti

Trois types de masses d'eau peuvent être distingués d'après les résultats de comptage et de production bactérienne du mois de mars (Tab. 8) : un type sous influence océanique , à proximité du récif barrière, avec des valeurs très proches de celle trouvée dans l'océan, un type lagonaire avec des valeurs intermédiaires et un type fortement perturbé, rencontré dans les fonds de baie ou à proximité des rivières et des émissaires urbains avec des valeurs typiques des milieux eutrophes.

Les abondances varient très fortement entre le mois de janvier (pluies abondantes) et le mois de mars (période moins pluvieuse au moment des prélèvements) jusque dans un facteur 30. Ces variations semblent très étroitement liées à l'importance des apports terrestres véhiculés par les rivières.

Les données obtenues dans les sédiments et des colonnes d'eau (aux dates les plus proches) ont été comparées à la fois par unité de volume et intégrées par m² (Tab. 9 et 10). Les données d'abondance et de production dans les sédiments sont peu nombreuses et les valeurs dans l'eau très variables dans le temps. Ces comparaisons n'ont donc actuellement qu'un caractère indicatif.

Tableau 9 : Abondances bactériennes dans la colonne d'eau complète et le premier cm de sédiment

STATION	DATE	hauteur	eau	sédiment	sédiment/	eau	sédiment	sédiment/
	(séd.)	(m)	Abond.	Abond.	col. d'eau	Abond.	Abond.	col. d'eau
			(10 ⁶ /ml)	(10 ⁹ /ml)	(vol/vol)	(10 ¹² /m ²)	(10 ¹² /m ²)	(m ² /m ²)
Z1S1	21/02/95	0.5	0.43	0.38	892	0.21	3.8	17.8
Z1S5	21/02/95	6.0	0.44	0.97	2204	2.64	9.7	3.7
Z1S3	21/02/95	18.0	0.53	1.24	2319	9.62	12.4	1.3
Z1S4	21/02/95	2.5	0.50	0.30	597	1.26	3.0	2.4
Z3S1	07/03/95	0.5	0.83	0.46	554	0.41	4.6	11.1
Z3S2	07/03/95	9	0.37	0.68	1814	3.37	6.8	2.0
Z3S3	07/03/95	13	0.51	0.42	824	6.62	4.2	0.6
Z3S4	07/03/95	2.5	0.41	0.21	513	1.02	2.1	2.1
Z3S2	25/04/95	9	0.72	0.41	567	6.51	4.1	0.6
Z3S4	25/04/95	2.5	0.26	0.10	388	6.55	1.0	1.6
Z2	03/05/95	13	0.49	0.60	1217	6.41	6.0	0.9
Z1S3	25/03/95	18	0.41	1.37	3341	7.38	13.7	1.9
			moyenne		1269			3.8
			erreur standard		271			1.5

Les bactéries du sédiment sont environ 1000 fois plus nombreuses en moyenne par unité de volume que dans la colonne d'eau. Ce rapport est en accord avec la revue des études microbiologiques en milieu corallien effectuée par Ducklow (1990). Le premier centimètre de sédiment contient donc en moyenne autant de bactéries qu'une colonne d'eau de 10 mètres de hauteur. Intégrées par mètre carré, les abondances dans le premier centimètre de sédiment aux différentes zones échantillonnées, représentent de 0.6 à 18 fois celles de la colonne d'eau sus jacente.

Tableau 10 : Incorporations de thymidine dans la colonne d'eau complète et le premier cm de sédiment

STATION	DATE	hauteur (m)	eau TdR inc. (pmol/l/h)	sédiment TdR inc. (pmol/l/h)	sédiment/ col. d'eau (vol/vol)	eau TdR inc. nmol/m ² /h	sédiment TdR inc. nmol/m ² /h	sédiment/ col. d'eau (m ² /m ²)
Z3S2	28/03/95	9	51.8	1422	27473	466	14220	31
Z3S4	28/03/95	2.5	2.5	22	8807	6	224	35
Z2	03/05/95	13	12.5	2076	165815	163	20760	128
Z1S3	23/03/95	18	5.9	18147	3055051	107	181470	1697

Les valeurs de production (Tab. 10) par unité de volume sont supérieures de plusieurs ordres de grandeur à celles de la colonne d'eau. Intégrées par mètre carré, les bactéries du premier centimètre de sédiment produisent entre 30 et 1700 fois plus de biomasse que les bactéries de la colonne d'eau.

Ces comparaisons sommaires montrent l'importance des bactéries du sédiment comparées à celles de la colonne d'eau dans les processus de minéralisation de la matière organique à l'échelle lagonaire.

D. Comparaison entre carbone phytobenthique et carbone bactériobenthique

En utilisant les valeurs des pigments chlorophylliens (chlorophylle *a* active et dégradée), il est possible d'estimer grossièrement le rapport entre le carbone du phytobenthos (en utilisant un rapport carbone / chlorophylle classique de 50) et le carbone bactérien et leurs contributions respectives au carbone organique total. (Tab. 11).

Tableau 11 : Importance comparée des biomasses bactériennes (C_{bact.}, 20 fgC/cellule) et phytobenthiques (C_{phyto} = Chl.a x 50) dans le premier cm de sédiment. Comparaison avec le carbone organique total (CO = perte au feu / 2).

	Abond. bact. 10 ⁹ /g	C bact µgC/g	Chl. <i>a</i> µg/g	C phyto µgC/g	Rapport C phyto/ C bact	CO µg/g	C bact en % du CO	C phyto en % du CO
FEVRIER								
<i>ARUE</i>								
Z1S1	0.19	3.8	0.87	44	11	15834	0.024	0.275
Z1S5	0.73	14.6	3.53	176	12	42753	0.034	0.412
Z1S3	1.6	32	2.53	127	4	72988	0.044	0.173
Z1S4	0.24	4.8	1.17	58	12	18927	0.025	0.309
MARS								
<i>ARUE</i>								
Z1S3	1.19	23.8	2.53	127	5	23321	0.102	0.543
Z1S4	0.48	9.6	1.70	85	9	59745	0.016	0.142
<i>MAEVA</i>								
Z3S1	0.26	5.2	2.44	122	23	25140	0.021	0.485
Z3S2	0.43	8.6	3.23	162	19	22182	0.039	0.729
Z3S3	0.29	5.8	4.23	211	28	18961	0.031	1.115
Z3S4	0.16	3.2	1.78	89	23	17172	0.019	0.519
AVRIL-MAI								
<i>MAHAENA</i>								
Z5 S1	0.14	2.8	0.79	40	14	24246	0.012	0.163
Z5 S2	0.31	6.2	0.89	45	7	37919	0.016	0.117
Z5 S3	0.26	5.2	1.50	75	14	31652	0.016	0.236
Z5 S4	0.18	3.6	1.65	83	23	21134	0.017	0.390
<i>PORT</i>								
Z2	0.67	13.4	1.88	94	7	57548	0.023	0.164
<i>ARUE</i>								
Z1S1	0.29	5.8	3.24	162	28	24278	0.024	0.666
Z1S5	0.66	13.2	4.93	246	19	53355	0.025	0.462
Z1S3	0.96	19.2	2.47	123	6	52811	0.036	0.234
Z1S4	0.13	2.6	1.83	91	35	24675	0.011	0.370
<i>MAEVA</i>								
Z3S1	0.14	2.8	1.97	99	35	21256	0.013	0.464
Z3S2	0.26	5.2	2.84	142	27	22140	0.023	0.642
Z3S3	0.05	1	2.44	122	122	17446	0.006	0.700
Z3S4	0.07	1.4	1.34	67	48	19365	0.007	0.346
moyenne					23	31515	0.025	0.420
erreur standard					5	3459	0.004	0.050

Même si le rapport C / Chl.*a* utilisé est impropre dans ce milieu, la biomasse phytobenthique semble dominer la biomasse du bactériobenthos dans le premier centimètre de sédiment. L'importance de ces deux compartiments au sein du carbone organique total est mineure avec respectivement 0.025 % en moyenne pour le bactériobenthos et 0.42 % en moyenne pour le phytobenthos.

E. Comparaison des abondances et productions avec les valeurs publiées.

Dans les milieux côtiers peu profonds, Velji et Albright (1985) montrent que les valeurs d'abondance varient entre 10^8 et 10^{10} bactéries par gramme de sédiment sec. Toutes les publications sur les milieux coralliens utilisent la technique à l'acide acétique pour le dénombrement et montrent une gamme très large de valeurs allant de 0.09 (Moriarty, 1990) à $7 \cdot 10^9$ bactéries par gramme de sédiment sec (Moriarty, 1985) et donc comparable à celle reportée en milieu côtier. Les valeurs déterminées dans le lagon de Tahiti varient de 0.05 à $1.60 \cdot 10^9$ bactéries par gramme de sédiment sec et se situent dans cette gamme de valeurs.

Les valeurs de production publiées en milieu corallien varient entre 1.2 (Hansen *et al.*, 1987) et $70 \mu\text{C/g/j}$ (Sorokin, 1974) mais avec des méthodes très variées et des facteurs de conversion très différents rendant les comparaisons très hasardeuses.

Les productions déterminées dans ce travail sont comprises entre 8 et $17 \mu\text{C/g/j}$ en barrière. Elles se situent donc dans la gamme reportée dans les milieux coralliens non perturbés. Elles peuvent atteindre $7000 \mu\text{C/g/j}$ dans le chenal d'Arue et soulignent l'état d'eutrophisation du site.

Les taux de renouvellement qui en découlent sont très faibles : de 0.1 à 1.2 heures. Ces valeurs semblent irréalistes. Les valeurs de la littérature donnent en effet des temps de génération de 1 jour (Pollard et Kogure, 1993) à 20 jours (Hansen *et al.*, 1987) en milieu corallien. En zone de mangroves, riches en matière organique, Alongi (1988) reporte des temps de génération minimaux de 4 heures. En milieux côtiers non coralliens les valeurs reportées vont de 3 heures (Van Duyl *et al.*, 1990) à 100 jours (Fallon *et al.*, 1983). Il est donc possible que le facteur de conversion employé ($1 \cdot 10^{18}$ cellules / mole) soit inadapté au site d'étude ou que les valeurs d'efficacité d'extraction de l'ADN soient sous estimées pour une raison encore indéterminée.

F. Relations entre abondance et/ou production matière organique

D'une manière générale, l'étude des radiales montre que les abondances et les productions covarient avec la perte au feu. Ces relations ont un sens puisque les sources nutritives alimentant le compartiment bactérien sont incluses dans la perte au feu. Une relation significative ($R = 0.82$, $n = 55$) a été observée entre \log (production bactérienne) et \log (matière organique) dans une revue des travaux effectués dans les sédiments côtiers par Sanders et Kalff (1994).

Des corrélations ont donc été recherchées entre biomasse et perte au feu (Fig. 12) et entre production et perte au feu (Fig. 13) en transformant toutes les valeurs en \log (Tab. 12) afin d'homogénéiser les variances et d'améliorer la normalité des données.

Tableau 12 : Récapitulatif des données d'abondance et de production bactérienne utilisées dans les régressions.

	date	Perte au feu mg/g	Abondance 10^9 cell/g	Production 10^9 cell/g/jour
MAHAENA				
Z5 S1	09/05/95	48	0.14	8.65
Z5 S2	09/05/95	76	0.31	6.01
Z5 S3	09/05/95	63	0.26	19.0
Z5 S4	09/05/95	42	0.18	0.85
PORT				
Z2	09/05/95	115	0.67	55.4
ARUE				
Z1S1	10/05/95	49	0.29	28.4
Z1S5	10/05/95	107	0.66	283
Z1S3	10/05/95	106	0.96	353
Z1S4	10/05/95	49	0.13	0.87
MAEVA				
Z3S1	10/05/95	43	0.14	28.3
Z3S2	10/05/95	44	0.26	21.5
Z3S3	10/05/95	35	0.05	15.7
Z3S4	10/05/95	39	0.07	0.40
ARUE				
Z1S3	20/03/95	119	1.19	
Z1S4	21/03/95	47	0.48	
ARUE				
Z1S1	21/02/95	32	0.19	
Z1S5	21/02/95	86	0.73	
Z1S3	21/02/95	146	1.60	
Z1S4	21/02/95	38	0.24	
MAEVA				
Z3S1	09/03/95	50	0.26	
Z3S2	09/03/95	44	0.43	
Z3S3	09/03/95	38	0.29	
Z3S4	09/03/95	34	0.16	

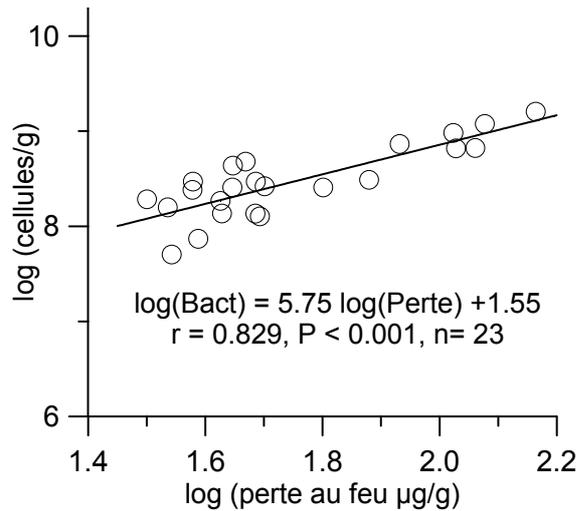


Figure 12 : Relation entre log(abondance) et log (perte au feu).

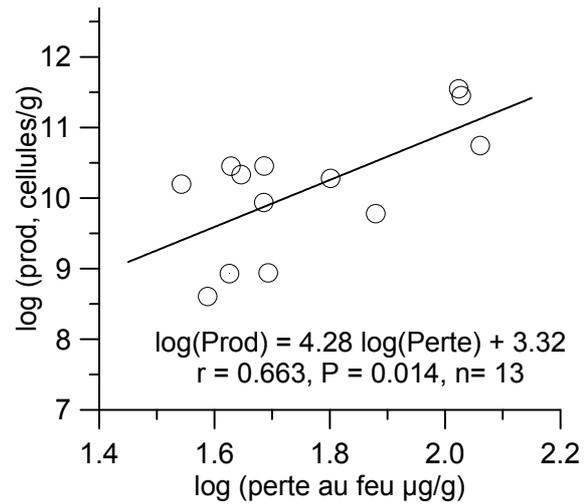


Figure 13 : Relation entre log(production) et log (perte au feu).

Une relation affine est trouvée entre log (Abondance) et log (Perte au feu). Le coefficient de corrélation linéaire est de 0.829 (n = 23) et la corrélation est donc très hautement significative ($p < 0.001$) (Fig. 12).

La corrélation entre log (Production) et log (Perte au feu) montre un coefficient de corrélation linéaire de 0.557 ($p < 0.05$) sans correction des efficacités d'extraction (non représenté). Il est de 0.663 ($p < 0.02$) en les intégrant (Fig. 13). Cette observation tend à montrer que les valeurs d'efficacité d'extraction sont valides, au moins les unes par rapport aux autres.

Dans les deux cas les corrélations sont donc significatives. Lorsque ces corrélations seront étayées par un plus grand nombre de données, elles permettront probablement de fournir un modèle prédictif. Il suffirait alors de déterminer le taux de matière organique dans le sédiment pour connaître l'abondance et la production de la communauté bactérienne.

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif principal de ce travail était de vérifier et d'adapter les méthodes de détermination de l'abondance et de la production bactérienne aux sédiments meubles du lagon de Tahiti.

Pour la détermination de l'abondance, il a fallu définir la méthode de détachement des bactéries fixées la plus adaptée aux sédiments étudiés. Avec le colorant utilisé (DAPI), la méthode la plus performante s'est révélée être le traitement au pyrophosphate de sodium suivi d'une dispersion aux ultrasons. Les durées de sonication optimales sont de 180 secondes pour les deux types de sédiment testés (vase et sable corallien) et permettent de dénombrer jusqu'à 5 fois plus de bactéries qu'en l'absence de traitement. La méthode utilisant un traitement à l'acide acétique suivi d'une dispersion au moyen d'un broyeur Ultraturrax a donné des résultats très faibles voire nuls, vraisemblablement par incompatibilité de l'acide avec le colorant. Un apprentissage du comptage en épifluorescence a été nécessaire. Les bactéries bleues ont été systématiquement distinguées des petites particules fluorescentes jaunes très abondantes. La précision obtenue dépend du nombre de bactéries comptées. La différence entre deux réplicats incluant le sous-échantillonnage, l'extraction, la filtration et le comptage est en moyenne de 30 %, ce qui est largement suffisant pour caractériser les différences entre sites.

La mesure de la production bactérienne aérobie par l'incorporation de thymidine tritiée dans l'ADN a été optimisée à chaque étape. La plus petite quantité de sédiment, dont la reproductibilité soit satisfaisante, est de 0.2 ml pour les sédiments vaseux et de 0.5 ml pour les sables coralliens. L'incorporation de thymidine tritiée est linéaire au moins 45 minutes. Ceci confirme l'absence de perturbation des communautés par cette technique. L'incubation en routine pendant 30 min. offre donc une bonne marge de sécurité. La concentration du traceur dans la zone des $\mu\text{mol/l}$ n'est pas saturante. La mesure systématique de la dilution isotopique a été entreprise et s'est avérée indispensable dans ce milieu. Les *pools* de dilution sont en effet très variables d'un sédiment à l'autre mais toujours importants. Ne pas en tenir compte conduirait à une sous-estimation variable et importante (jusqu'à 25 fois) des activités d'incorporation. La précision de ces déterminations est excellente avec une erreur standard de 7 % en moyenne avec la procédure utilisée (5 réplicats). L'efficacité d'extraction de l'ADN a été déterminée au moyen d'une suspension bactérienne marquée par la thymidine tritiée. Les faibles valeurs obtenues (de 0.71 à 7.55 %) demandent toutefois à être vérifiées. Une incertitude majeure demeure sur le facteur de conversion de l'incorporation de thymidine tritiée en production bactérienne, ce qui dépasse le cadre de ce travail. Dans un travail ultérieur, la comparaison avec les flux d' O_2 à l'interface pourrait fixer une limite supérieure de ce facteur.

Ce travail est évidemment trop ponctuel pour prétendre décrire de manière exhaustive les processus bactériens aux sites étudiés. En effet, l'étude s'est limitée au premier centimètre du sédiment. Il reste à explorer par des profils verticaux la part des bactéries sous-jacentes pour pouvoir intégrer la totalité du bactériobenthos. La variabilité temporelle des processus bactériens reste par ailleurs à évaluer.

Néanmoins les résultats obtenus montrent que l'évolution des paramètres bactériens le long des radiales est structurée et diffère selon les zones. Les plus fortes valeurs d'abondance et de production le long des radiales sont trouvées, soit au niveau des récifs frangeants lorsqu'une rivière draine des effluents organiques (baie du Maeva), soit dans le chenal lorsque l'essentiel des apports organiques transite par celui-ci (Arue). Toutes les stations situées au niveau des récifs barrières sont par ailleurs comparables. Les valeurs d'abondance et de production observées y sont parmi les plus faibles. Aucune eutrophisation n'est donc perceptible au niveau des récifs barrières quelle que soit la zone. Les valeurs de production bactérienne aux 4 stations de la radiale de Mahaena sont les plus faibles de toutes. L'environnement de Mahaena apparaît donc comme le moins perturbé des 4 sites choisis. Les plus fortes valeurs ont été déterminées dans le chenal d'Arue. Les 4 zones d'étude présentent donc une gradation de l'eutrophisation nettement perceptible au moyen des paramètres bactériens mesurés.

Enfin la comparaison sommaire, entre la colonne d'eau et les sédiments, démontre la dominance tant en biomasse qu'en activité du bactériobenthos sur le bactérioplancton dans ce milieu lagunaire peu profond.

Le deuxième objectif de ce travail était de déterminer s'il existait des relations entre l'abondance et la matière organique, d'une part, et entre la production et la matière organique d'autre part. La corrélation entre abondance et perte au feu est très hautement significative ($P < 0.001$, $n=23$) et la corrélation entre production bactérienne et perte au feu est significative ($P < 0.05$, $n=13$).

En augmentant le nombre de données et en améliorant la détermination de la matière organique par des mesures plus précises au moyen de l'analyse CHN, les coefficients de corrélation linéaire pourraient vraisemblablement être améliorés. Ce type d'étude pourrait alors fournir un véritable modèle prédictif des abondances et des activités bactériennes benthiques à partir de la teneur en matière organique des sédiments.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à remercier tout particulièrement :

Le docteur Raymond BAGNIS qui est à l'origine de mon aventure Polynésienne et qui me fait l'honneur de présider le jury de D.E.A.

L'Institut MALARDE pour l'utilisation du lyophilisateur.

L'IFREMER pour le prêt de l'Ultraturax.

L'ensemble du personnel du centre ORSTOM de Tahiti, techniciens, stagiaires, VATs, thésards et chercheurs.

Patrick FROUIN pour ses données, ainsi que pour ses conseils sédimentaires...

Pierre HARRIS pour les données chlorophylliennes et son dévouement.

Joël OREMPULLER et Nicolas MAIHOTA pour leur patience lors des prélèvements.

Jean-Pascal TORRETON pour avoir été mon guide scientifique au cours de ces cinq mois de stage dans cette exploration du lagon de Tahiti. Merci à lui pour avoir dirigé ce travail avec rigueur.

BIBLIOGRAPHIE

- Alongi DM (1986) Population structure and trophic composition of the freeliving nematodes inhabiting carbonate sands of Davies Reef, Great Barrier Reef. *Aust J Mar Res* 37 : 609-619
- Alongi DM (1988) Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. *Microb Ecol* 15 : 59-79
- Alongi DM (1992) Vertical profiles of bacterial abundance, productivity and growth rates in coastal sediments of the central Great Barrier Reef lagoon. *Mar Biol* 112 : 657-663
- Dale NG (1974) Bacteria in intertidal sediment : factors related to their distribution. *Limnol Oceanogr* 19 : 509-518
- Ducklow HW (1990) The biomass, production and fate of bacteria in coral reefs. *Ecosystems of the world Dubinsky Z (ed) Elsevier Amsterdam*
- Epstein SS, Rossel J (1995) Enumeration of sandy sediment bacteria: search for optimal protocol. *Mar Ecol Prog Ser* 117 : 289-298
- Elliott JM, Decamps H (1973) Guide pour l'analyse statistique des échantillons d'invertébrés benthiques. *Annls Limnol* 9 : 79-120
- Fallon RD, Newell SY, Hopkinson CS (1983) Bacterial production in marine sediments : cell specific versus system measures. *Microb Ecol* 19 : 53-62
- Findlay SEG, Meyer JL, Edwards RT (1984) Measuring bacterial production via rate of incorporation of [³H] thymidine into DNA. *J Microb Methods* 2 : 57-72
- Fuhrman JA, Azam F (1980) Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica and California. *Appl Environ Microbiol* 39 : 1085-1095
- Hansen JA, Alongi DM, Moriarty DJW, Pollard PC (1987) The dynamics of benthic microbial communities at Davies Reef, central Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 6 : 63-70
- Hansen JA, Klump DW, Alongi DM, Dayton PK, Riddle MJ (1992) Detrital pathways in a coral reef lagoon : Detritus deposition, benthic microbial biomass and production. *Mar Biol* 113 : 363-372
- Hatcher BJ, Johannes RE, Robertson AI (1989) Review of research relevant to the conservation of shallow tropical marine ecosystems. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 27 : 337-414
- Hobbie JE, Daley RJ, Jasper S (1976) Use of nucleopore for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl Environ Microbiol* 33 : 1225-1228
- Holm-Hansen O, Lorenzen CJ, Holmes RW, Strickland JDH (1965) Fluorometric determination of chlorophyll . *J Cons Int Explor Mer* 30 : 3-15
- Johnstone RW (1989) Mineralization in coral lagoon sediments. *PhD thesis Univ Sydney*
- Johnstone RW, Koop K, Larkum AWD (1990) Physical aspects of coral reef lagoon sediments in relation to detritus processing and primary production. *Mar Ecol Prog Ser* 66 : 273-283
- Kaplan LA, Bott TL, Bielicki JK (1992) Assessment of ³H-Thymidine Incorporation into DNA as a Method to Determine Bacterial Productivity in Stream Bed Sediments. *Appl Environ Microbiol* 58 : 3614-3621
- Kichman DL, Sigda J, Kapuscinski R, Mitchell R (1982) Statistical Analysis of the Direct Count Method for Enumerating Bacteria. *Appl Environ Microbiol* 44 : 376-382

- Lee S, Fuhrman JA (1987) Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Appl Environ Microbiol* 53 : 1298-1303.
- Lørenzen CJ (1967) Determination of chlorophyll and pheopigments : spectrophotometric equations. *Limnol Oceanogr* 12 : 343-346
- Mc Daniel JA, Capone DG (1985) A comparison of procedures for the separation of aquatic bacteria from sediments for subsequent direct enumeration. *J Microb Methods* 3 : 291-302
- Moriarty DJW (1986) Measurement of bacterial growth rates in aquatic systems from rates of nucleic acid synthesis. *Adv Microb Ecol* 9 : 245-292
- Moriarty DJW, Pollard PC (1981) DNA synthesis as a measure of bacterial productivity in seagrass sediments. *Mar Ecol Prog Ser* 5 : 151-156
- Moriarty DJW, Pollard PC, Hunt WG, Moriarty CM, Wassenberg TJ (1985) Productivity of bacteria and microalgae and the effect of grazing by holothurians in sediments on a coral reef flat. *Mar Biol* 85. 293-300
- Moriarty DJW, Roberts DG, Pollard PC (1990) Primary and bacterial productivity of tropical seagrass communities in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Mar Ecol Prog Ser* 61 :1 45-157
- Pollard PC, Kogure K (1993) Bacterial decomposition of detritus in a tropical seagrass (*Syringodium isoetifolium*) ecosystem, measured with [Methyl-³H] thymidine. *Aust J Mar Freshwater Res* 4 : 155-172
- Pollard PC, Moriarty DJW (1984) Validity of the triated thymidine method for estimation bacterial growth rates : measurement of isotope dilution during DNA synthesis. *Appl Environ Microbiol* 48 : 1076-1083
- Porter KG, Feig YS (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol Oceanogr* 25 : 943-948.
- Sanders BD, Kalff J (1993) Factors controlling bacterial production in marine and freshwater sediments. *Microb Ecol* 26 : 79-99
- Sorokin Y (1974) Bacteria as a component of the coral reef community. *Proc 2nd second International Coral Reef Symposium, Great Barrier Reef Committee, Brisbane*
- Starink M (1995) Seasonal variation in bacterial production, protozoan grazing, and abundances in sediments of a freshwater littoral zone. *PhD thesis Univ Amsterdam*
- Van Duyl FC, Kop AJ (1990) Seasonal patterns of bacterial production and biomass in intertidal sediments of the Western Dutch Wadden sea. *Mar Ecol Ser* 59 : 249-261
- Velji MI, Albright LJ (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
- Verardo DJ, Froelich PN, Mc Intyre A (1990) Determination of organic carbon and nitrogen in marine sediments using the Carlo Erba NA-1500 Analyzer. *Deep Sea Res* 37 : 157-165
- Wicks RJ, Robarts RD (1987) The extraction and purification of DNA labelled with [methyl-³H]thymidine in aquatic bacterial production studies. *J Plankton Res* 9 : 1159-1166