

# INFLUENCE DE LA DÉPRESSION DE FILTRATION SUR LA MESURE SIMULTANÉE DE L'ASSIMILATION ET DE L'EXCRÉTION ORGANIQUE DU PHYTOPLANCTON

ALAIN HERBLAND\*

Océanographe de l'O.R.S.T.O.M.

## RÉSUMÉ

*L'intensité de la dépression utilisée pendant la filtration influence très sensiblement les valeurs de l'assimilation et de l'excrétion du phytoplancton. Une expérience conduite dans les eaux de l'upwelling mauritanien sur une population naturelle indique qu'il ne faut pas dépasser 75 mm Hg.*

*La reproductibilité des résultats bruts d'assimilation et d'excrétion ne semble pas affectée par l'augmentation de succion, tandis que celle du rapport des deux valeurs est meilleure avec de faibles succions. Ceci suggère que l'hétérogénéité spatiale du phytoplancton serait un facteur important de variabilité dans la mesure de la production primaire et qu'au contraire il existe une homogénéité fonctionnelle dans plusieurs sous-échantillons.*

## ABSTRACT

*The amount of vacuum applied to draw the water through the filter is an important source of error in determining simultaneously phytoplankton assimilation and organic excretion. An experiment made in coastal mauritanian upwelled waters with a natural population, shows that the suction must not exceed 75 mm Hg.*

*The reproducibility of total organic production, assimilation and excretion measurements is not disturbed by increasing succions while the reproducibility of the ratio excretion: excretion+assimilation is better with low vacuum. This result seems to show that the spatial heterogeneity of phytoplankton cells is an important cause of variability in primary production measurements while a functional or physiological homogeneity exists in the sub-samples.*

## INTRODUCTION.

Longtemps considérée comme secondaire, et même contestée dans sa réalité biologique, l'excrétion organique du phytoplancton marin dans les conditions naturelles a fait l'objet d'études récentes. Mise en évidence de façon indirecte par ANTIA *et al.* (1963), devant son importance présumée (35-40 %

de la photosynthèse) différents auteurs l'ont étudiée, surtout depuis 1965 (FOGG *et al.* 1965, HELLEBUST 1965, HELLEBUST 1967, HORNE *et al.* 1969, ANDERSON et ZEUTSCHEL 1970, RYTHYR *et al.* 1971, THOMAS 1971, SAMUEL *et al.* 1971, IGNATIADIS 1973).

Tous ces auteurs emploient des adaptations de la méthode au C<sup>14</sup> (STEEMANN NIELSEN 1952), et trouvent des résultats très variables, qui peuvent

\* Centre de Recherches Océanographiques, B.P.V 18 - Abidjan (Côte d'Ivoire)

s'expliquer par des populations, des stades physiologiques différents, etc. Cependant, dans cette méthode, le point délicat est la séparation de la fraction particulaire de la fraction dissoute, généralement obtenue par filtration.

KUENZLER et KETCHUM (1962) ont montré en utilisant du phosphore 32 qu'une dépression supérieure à 50 mm de mercure entraîne des ruptures de cellules, et ARTHUR et RIGLER (1967), en utilisant des volumes croissants ont également mis en évidence une lyse des cellules, à cause d'un temps de séjour prolongé sur le filtre. Si les pertes à la filtration ont pour résultat une sous-estimation de l'assimilation du  $^{14}\text{C}$ , elles deviennent particulièrement néfastes lorsque l'on étudie l'assimilation et l'excrétion, car toute sous-estimation de la première surestime la seconde. Le rapport Excrétion/Excrétion + Assimilation, couramment employé pour exprimer la part de l'excrétion dans la production organique totale sera donc très sensible à ces pertes.

Le but de cette étude est de montrer l'influence de la dépression de filtration sur la mesure de la production organique particulaire (assimilation), de la production organique dissoute (excrétion) et donc du pourcentage excrété par une population naturelle de phytoplancton marin. Évidemment, les résultats auraient pu être différents avec d'autres populations et d'autres filtres; mais le fait de travailler avec une population naturelle de zone d'upwelling, dans des conditions naturelles de lumière et de température et non avec une culture monospécifique rend ces résultats moins limités.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES.

Cette expérience a été conduite dans les eaux côtières de l'upwelling mauritanien, en mars 1974, sur le *N.O. J. Charcot*, pendant la croisière *CINECA-Charcot V*.

L'eau prélevée à 5 m avec une bouteille en PVC (Niskin 30 l) a été répartie dans 15 flacons d'incubation. Après l'addition de  $2 \mu\text{Ci}$  de  $^{14}\text{CO}_3\text{HNa}$  (CEA, France) les flacons ont été exposés dans un incubateur sur le pont de 9 h 00 à 19 h 00. La température était maintenue à 16-17° par une circulation d'eau de mer de surface.

A la fin de l'incubation, des séries de triplicata ont été filtrés sur filtre Millipore HA (0.45  $\mu$ ) avec des dépressions croissantes. Le filtrat recueilli a été acidifié à pH 2,5 avec de l'HCl 0,5N puis débarrassé de son  $\text{CO}_2$  par « bullage » pendant 20 mn; 5 ml du filtrat ont été introduits dans une fiole à scintillation et additionnés de 5 ml d'Instagel (Packard Corp.), liquide scintillant permettant l'incorporation de grandes quantités d'eau dans la fiole

de comptage. Filtres et filtrats ont été conservés à  $-20^\circ\text{C}$ .

Pour déterminer le bruit de fond de la mesure de l'excrétion, 8 échantillons de la même eau, contenant chacun  $2 \mu\text{Ci}$  de  $^{14}\text{CO}_3\text{HNa}$  ont été immédiatement acidifiés et « bullés » dans les mêmes conditions que les échantillons incubés.

Au laboratoire, 12 heures avant le comptage, les filtres ont été recouverts par du liquide scintillant (Toluène + PPO + POPOP); compte tenu de leur radioactivité, les filtres ont été comptés 1 minute, les filtrats d'incubation 4 mn, et les filtrats pour la détermination du bruit de fond 10 mn, afin de réduire l'erreur statistique de comptage due à l'émission aléatoire du rayonnement.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION.

### 1. Le bruit de fond de la mesure de l'excrétion.

La valeur du bruit de fond pour l'excrétion, qui correspond à une activité résiduelle de matière organique marquée dans la solution commerciale de  $^{14}\text{CO}_3\text{HNa}$  doit être faible afin d'augmenter la précision de la méthode car les comptages obtenus dans les filtrats sont aussi, généralement faibles. Les résultats sont donnés dans le tableau 1.

TABLEAU 1

Radioactivité résiduelle contenue dans 5ml d'eau de mer additionnée de  $^{14}\text{CO}_3\text{HNa}$ , acidifiée et « bullée » pendant 20 mn; comparaison avec le bruit de fond du compteur — temps de comptage 10 mn (m = moyenne, Cv = coefficient de variation).

Échantillons Cpm.	Bruit de fond du compteur Cpm.
105,4	
113,3	
110,7	59,5
110,2	61,5
m = 108,6	m = 61,4
100,8	63,3
Cv = 3,3 %	
108,6	
110,3	
109,6	

L'activité résiduelle est faible puisqu'inférieure à 2 fois le bruit de fond du compteur, et constante (Cv = 3.3 %). La solution de  $^{14}\text{CO}_3\text{HNa}$  utilisée ne contient donc pas, ou très peu de matière organique marquée, ce qui est loin d'être toujours le cas. (Barber, communication personnelle).

2. Influence de la dépression.

Les résultats sont exprimés dans le tableau 2. L'augmentation de la dépression de filtration a une influence directe sur les valeurs absolues de l'assimilation, de l'excrétion et donc doublement sur le rapport excrétion/excrétion+assimilation.

Cette influence est très importante entre 75 et 250 mm Hg et tend à se stabiliser ensuite (fig. 1). Strickland (1968) recommande de ne pas dépasser 1/4-1/3 d'atmosphère, c'est-à-dire une zone où l'influence de la dépression est très sensible. La plupart des auteurs cités plus haut ont utilisé des dépressions de filtrations de cet ordre (entre 150 et 350 mm Hg). Seuls THOMAS (1971) (55 mm Hg) et IGNATIADIS (1973) (<100 mm Hg), ont utilisé des dépressions très faibles.

En diminuant la pression de filtration, on augmente considérablement le temps de filtration, qui peut devenir un facteur gênant surtout pour des incubations de courtes durées. Il reste la possibilité

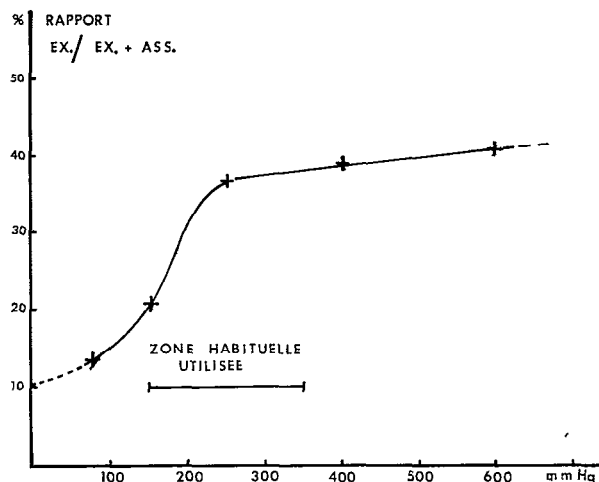


Fig. 1. — Influence de la dépression de filtration sur la valeur des rapports Excrétion/Excrétion+assimilation. Chaque croix représente la valeur moyenne de 3 mesures séparées (voir tableau 2).

TABLEAU 2

Influence de la dépression de filtration sur la mesure de l'assimilation, de l'excrétion et du rapport excrétion/excrétion+assimilation. (— \* Échantillon renversé pendant la filtration) — m = moyenne, Cv = coefficient de variation

Dépression mm Hg.	Assimilation Cpm/90 ml	Excrétion Cpm/90 ml	Excrétion		Assimilation + Excrétion Cpm/90 ml
			Excret. + Assimil. %		
75	34123 m = 30960	5320 m = 4843	13,5 m = 13,6 %		39443
	24232 Cv = 15,4 %	4095 Cv = 11,0 %	14,4 Cv = 4,0 %		28327
	34526	5116	12,9		39642
150	28136 m = 234,9	6250 m = 6050	18,2 m = 20,7 %		34386
	19950 Cv = 14,7 %	5872 Cv = 4,4 %	22,7 Cv = 9,0 %		27822
	22201	6030	21,3		28231
250	16844 m = 19872	11376 m = 11369	40,3 m = 36,8		28220
	18257 Cv = 16,7 %	11930 Cv = 4,0 %	39,5 Cv = 11,2 %		30187
	24515	10800	30,6		35315
400	18571 m = 20910	12532 m = 13351	40,3 m = 39,1 %		31103
	23250 Cv = —	14170 Cv = —	37,9		37420
	—	—	—		—
600	24577 m = 19213	12010 m = 12918	32,8 m = 40,8		36587
	17303 Cv = 20,0 %	13608 Cv = 5,2 %	44,0 Cv = 14,0 %		30911
	15759	13135	45,5		28894

d'augmenter la porosité des filtres. GORDON (1970) a montré que paradoxalement des filtres de 1,2  $\mu$  semblaient retenir plus de matière particulaire que les filtres de 0,45  $\mu$ . Il est probable que la très grande majorité du phytoplancton actif serait retenue par des filtres de 1,2  $\mu$  ou même 3  $\mu$  de porosité; on emploie habituellement des filtres de 0,45  $\mu$  ou 0,3  $\mu$  de porosité pour retenir le maximum de débris des cellules qui se lysent pendant la filtration sur la membrane (LASKER et HOLMES, 1957; THOMAS, 1963). En diminuant considérablement la dépression de filtration, la lyse des cellules serait-elle aussi diminuée, voire même supprimée. Cela permettrait l'emploi de filtres à plus grande porosité, en accord avec la taille des cellules du phytoplancton. Il y a là un compromis à trouver puisqu'aucune solution n'est idéale.

La reproductibilité des mesures de production organique totale (assimilation + excrétion) pour les 14 échantillons est satisfaisante, puisque le coefficient de variation (Cv) égale 14 %. C'est une valeur comparable à celle obtenue par d'autres auteurs (CASSIE, 1962; PLATT et FILION, 1973). L'augmentation de suction ne semble pas affecter la reproductibilité des mesures d'assimilation et d'excrétion : le coefficient de variation oscille entre 15 et 20 % pour l'assimilation, et 4 et 11 % pour l'excrétion. En revanche, la reproductibilité des mesures du rapport excrétion/production organique totale semble diminuer quand la dépression augmente, puisque le coefficient de variation croît régulièrement de 4 à 14 % (tableau 2).

CASSIE (1962) pensait qu'une grande partie des variations trouvées dans l'estimation de la production primaire au  $C^{14}$  était attribuable aux variations aléatoires de la « capacité de photosynthèse » du phytoplancton, induites par le maniement perturbateur des échantillons. Il basait cette affirmation sur le fait qu'en appliquant l'aspect physico-chimique de la méthode à du matériel inerte, la variabilité serait beaucoup moins grande. Il semble en effet impossible de réduire le coefficient de variation de la technique au  $C^{14}$  au-dessous de 10 % (CASSIE, 1962; PLATT et FILION, 1973).

Or nos résultats semblent montrer que l'on peut obtenir avec cette méthode une précision bien supérieure (Cv = 4 % pour la mesure du rapport Excrétion/excrétion + assimilation). Si l'hypothèse de CASSIE est exacte, il faut admettre que les perturbations dues aux manipulations affectent le taux de photosynthèse sans changer la qualité du métabolisme des cellules.

En résumé, on peut avancer que les variations en valeur absolue de la production organique totale, de l'assimilation et de l'excrétion sont essentiellement dues à une hétérogénéité spatiale des cellules du phytoplancton d'un échantillon à l'autre plus qu'à des raisons méthodologiques. En revanche, la constance remarquable du rapport excrétion/production organique totale obtenue avec de faibles succions montre une homogénéité fonctionnelle dans plusieurs échantillons.

Manuscrit reçu au S.C.D. le 29 juillet 1974

## BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON (G. C.) et ZEUSCHEL (R. P.), 1970. — Release of dissolved organic matter by marine phytoplankton in coastal and offshore areas of the northern Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.* 15 : 402-407.
- ANTIA (N. J.), Mc ALLISTER (C. D.), PARSONS (T. R.), STEPHENS (K.) et STRICKLAND (J. D. H.), 1963. — Further measurements of primary production using a large volume plastic sphere. *Limnol. Oceanogr.* 18 : 166-183.
- ARTHUR (C. R.) et RIGLER (F. H.), 1967. — A possible source of error in the  $^{14}C$  method of measuring primary productivity. *Limnol. Oceanogr.* : 121-124.
- CASSIE (R. M.), 1962. — Microdistribution and other error components in  $^{14}C$  measurements. *Limnol. Oceanogr.* 7 : 121-130.
- FOGG (G. E.), NALEWAJKO (C.) et WATT (D. W.), 1965. — Extra-cellular products of phytoplankton photosynthesis. *Proceedings of the Royal society B*, 162 : 517-534.
- GORDON (D. C.), 1970. — Some studies on the distribution and composition of particulate organic carbon in the North Atlantic Ocean. *Deep Sea Research*, 17 : 233-243.
- HELLEBUST (J. A.), 1965. — Excretion of organic compounds by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 10 : 192-206.
- HELLEBUST (J. A.), 1967. — Excretion of organic compounds by cultured and natural populations of marine phytoplankton. *Estuaries* (ed. G. H. Lough) : 361-366. Washington, D. C. : AAAS.
- HORNE (A. J.), FOGG (G. E.) et EAGLE (D. J.), 1969. — Studies *in situ* of primary production of an area of inshore Antarctic sea. *J. mar. biol. Ass. UK.* 49 : 393-405.
- IGNATIADIS (L.), 1973. — Studies on the factors affecting the release of organic matter by *Skeletonema costatum*.

- (Greville) Cleve in field conditions. *J. mar. biol. Ass. U. K.* 53 : 923-935.
- KUENZLER (E. J.) et KETCHUM (B. H.), 1962. — Rate of phosphorus uptake by *Phaeodactylum tricoratum*. *Biol. Bull.*,
- LASKER (R.) et HOLMES (R. W.), 1957. — Variability in retention of marine phytoplankton by membrane filters, *Nature*, 180, 1295-1296.
- PLATT (T.) et FILION (C.), 1973. — Spatial variability of the productivity : biomass ratio for phytoplankton in a small marine basin. *Limnol. Oceanogr.* 18 : 743-749.
- RYTHER (J. H.), MENZEL (D. W.), HULBURT (E. M.), LORENZEN (C. J.) et CORWIN (N.), 1971. — The production and utilization of organic matter in the Peru coastal current. *Inv. Pesq.* 35 : 43-59.
- SAMUEL (S.), SHAH (N. M.), FOGG (G. E.), 1971. — Liberation of extracellular products of photosynthesis by tropical phytoplankton. *J. mar. biol. Ass. U. K.* 51 : 793-798.
- STEEMANN NIELSEN (E.), 1952. — The use of radioactive carbon ( $^{14}\text{C}$ ) ampoules for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer*, 18, 117-140.
- STRICKLAND (J. D. H.) et PARSONS (T. R.), 1968. — A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada Bull., 167, 311 p.
- THOMAS (J. P.), 1971. — Release of dissolved organic matter from natural populations of marine phytoplankton. *Marine Biology* 11, 311-323.
- THOMAS (W. H.), 1963. — Physiological factors affecting the interpretation of phytoplankton production measurements. Proc. Conf. Primary productivity Measurements, Marine and Freshwater ; M. S. Doty, ed. U.S. — Atomic Energy Comm. TID 7633, 147-162.