

**Université Pierre et Marie Curie – Paris VI**

**D.E.A**

Diplôme d'Etudes Approfondies

**Océanologie Biologique et Environnement Marin**

Option : ENVIRONNEMENT MARIN ET BIOGEOCHIMIE

Mémoire

Présenté par Enora BRIAND

**2002 – 2003**

**Détermination de l'efficacité de croissance des  
bactéries hétérotrophes dans un gradient  
d'eutrophisation côtier lagonaire**

Sous la direction scientifique  
d'Olivier PRINGAULT et Jean-Pascal TORRETON

# Remerciements

Je tiens à remercier Renaud FICHEZ pour m'avoir accueilli au sein de l'Unité de Recherche CAMELIA.

Merci à Olivier PRINGAULT pour son encadrement tant au laboratoire que sur le terrain durant ces cinq mois de stage. Sa disponibilité, sa patience et son dynamisme ont fortement contribué au bon déroulement de ce stage.

Je remercie également Jean-Pascal TORRETON pour ses conseils et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce stage.

Je remercie Sandrine CHIFFLET et Philippe GERARD pour la réalisation des analyses de chlorophylle *a*.

J'adresse également mes remerciements à Séverine JACQUET pour m'avoir initié aux manipulations de microbiologie (« mets tes gants ! »), Sam (« casse pas la tête ») et Miguel, capitaines du N.O. Coris, Alain LAPETITE pour leur sympathie et leur aide pour les échantillonnages.

Je remercie Sylvain OUILLOU, Pascal DOUILLET, « chercheurs – chanteurs », pour leur bonne humeur (les couloirs sont beaucoup plus calmes après 18 heures) et les petits goûters improvisés.

Un grand merci également à tous les autres stagiaires : lofteurs (Christian, Rulio, Darwin, Xavier<sup>2</sup>, IIR, Julien, Aurore<sup>2</sup>, Céline), l'orphelinat (Ambroise, David), la CPS (Claire, Marie-Ange, Mussel, Scott) et à tous ceux restés en métropole qui même à distance seront restés très proche (Delphine, Pipo, Mimo, Jo, Mimine, Mat, Dude, Bé, Runo, les Brouilloud, Boun, la famille...).

## **Détermination de l'efficacité de croissance des bactéries hétérotrophes dans un gradient d'eutrophisation côtier lagunaire**

**RESUME :** L'efficacité de croissance des bactéries hétérotrophes (ECB), c'est à dire le rapport du carbone consommé à la biomasse bactérienne produite, est une variable clef dans la compréhension des flux de matière planctoniques au sein des écosystèmes aquatiques. Cette efficacité dépend de nombreux facteurs environnementaux qui varient à de courtes échelles de temps et d'espace. L'efficacité de croissance est donc susceptible de varier de façon importante.

L'objectif de cette étude était de déterminer l'efficacité de croissance bactérienne dans des situations trophiques contrastées du lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie afin d'examiner si l'on pouvait la relier à une grandeur caractéristique de l'état trophique dans une perspective de modélisation. Pour ce faire, nous avons estimé la respiration bactérienne et l'avons comparée à la croissance bactérienne dans des échantillons d'eau de mer filtrée sur 0,6  $\mu\text{m}$ . Grâce au suivi en continu de la consommation d'oxygène au moyen des microsondes, nous avons pu mettre en évidence que celle-ci n'était significative qu'à partir du moment où l'activité bactérienne augmentait au cours de l'incubation. Il est donc nécessaire de suivre en continu cette évolution pour minimiser les temps d'incubation, afin de se rapprocher des conditions initiales et de limiter ainsi les effets dus au confinement et aux changements éventuels de communautés.

L'efficacité de croissance bactérienne, variant effectivement largement le long des gradients d'eutrophisation étudiés (1,5 à 42%), était positivement corrélée avec l'état trophique du milieu représenté par l'incorporation de thymidine. Cette relation montre qu'en poursuivant ce type d'approche il devrait être possible d'estimer l'efficacité de croissance bactérienne à partir d'un descripteur de l'état trophique à fort taux d'acquisition comme l'incorporation de thymidine.

*Mots clefs : efficacité de croissance bactérienne, respiration bactérienne, production bactérienne, microsondes, Nouvelle-Calédonie*

## **Determining bacterioplankton carbon growth efficiency along trophic gradients in a coral reef lagoon**

**ABSTRACT :** The heterotrophic bacterial growth efficiency (BGE), which is the ratio between the carbon consumed and the bacterial biomass produced, is a key factor in understanding planktonic flows of organic matter in aquatic ecosystems. This efficiency depends on many environmental factors which vary on short scales of time and space. As a consequence, growth efficiency may exhibit important variations.

The aim of this study was to determine bacterial growth efficiency in contrasted trophic situations in the south west lagoon of New Caledonia. We also intended to determine whether we could relate bacterial growth efficiency to the trophic state in prospect of modelling. For that purpose, we estimated bacterial respiration and compared it with the bacterial growth in filtered (0.6  $\mu\text{m}$ ) sea water samples. The continuous monitoring of oxygen concentration thanks to oxygen microprobes, allowed us to show that oxygen consumption became significant as soon as bacterial activity increased during incubation. As a consequence it is necessary to monitor continuously these changes in order to reduce the incubation time. This way incubation conditions get closer to the initial conditions and bottle effects and probable changes within the bacterial community are minimized.

Bacterial growth efficiency, varying indeed largely along the studied gradients of eutrophication (1.5 to 42%), was positively correlated with the trophic state determined by the thymidine incorporation procedure. This relationship shows that it should be possible with additional data to compute bacterial growth efficiency from an indicator of the trophic state such as the thymidine incorporation rate.

*Key words : bacterial growth efficiency, bacterial respiration, bacterial production, microprobes, New Caledonia*

# Sommaire

<b>1. Introduction</b> .....	<b>1</b>
1.1 Cadre général des activités.....	1
1.2 Nécessité de déterminer l'efficacité de croissance bactérienne.....	2
1.3 Aspects méthodologiques de la détermination de l'efficacité de croissance.....	2
1.3.1 Utilisation de substrats marqués.....	3
1.3.2 Méthodes impliquant un découplage.....	3
1.4 Variations de l'efficacité de croissance.....	4
1.5 Objectif du DEA.....	5
<b>2. Matériels et méthodes</b> .....	<b>7</b>
2.1 Stratégie d'échantillonnage.....	7
2.1.1 Choix du lagon sud ouest de la Nouvelle-Calédonie.....	7
2.1.2 Choix des sites d'échantillonnage.....	7
2.1.3 Manipulation de terrain.....	8
2.2 Variables mesurées.....	9
2.2.1 Chlorophylle <i>a</i> .....	9
2.2.2 Abondance bactérienne.....	10
2.2.3 Incorporation de <sup>3</sup> H-thymidine.....	10
2.2.4 Respiration communautaire et bactérienne.....	11
2.2.5 Efficacité de croissance.....	13
2.3 Traitements statistiques.....	14
2.3.1 Coefficient de corrélation de rang de Spearman.....	14
2.3.2 Coefficient de corrélation linéaire : $r^2$ .....	14
<b>3. Résultats – Discussion</b> .....	<b>15</b>
3.1 Approche méthodologique.....	15
3.1.1 Consommation de la sonde.....	15
3.1.2 Reproductibilité de la réponse.....	16
3.1.3 Temps d'incubation.....	17
3.1.4 Mesures discrètes et en continu.....	20
3.1.5 Conclusion.....	23
3.2 Efficacité de croissance et gradients trophiques.....	24
3.2.1 Gradients trophiques le long des radiales suivies.....	24
3.2.2 Variations de l'efficacité de croissance bactérienne.....	27
3.2.3 Conclusion.....	33
<b>4. Conclusion – Perspectives</b> .....	<b>34</b>
<b>5. Références bibliographiques</b> .....	<b>36</b>

# 1 Introduction

## 1.1 Cadre général des activités

Les deux tiers environ de la population mondiale vivent à moins de 60 kilomètres des côtes et nombreux sont les pays auxquels la mer procure leurs moyens de subsistance, que ce soit par la pêche, le commerce maritime ou le tourisme. En milieu tropical, les principales menaces pour zones côtières coralliennes sont issues des activités humaines : les eaux usées, la pollution industrielle et agricole, les apports sédimentaires excessifs dans les zones côtières et une pêche, utilisant des méthodes de plus en plus intensives et nuisibles (ICRI<sup>1</sup>) et la prise en compte des dégradations provoquées par les activités humaines apparaît actuellement comme une préoccupation majeure à l'échelle de la planète.

Le Programme National sur l'Environnement Côtier (PNEC) vise à fournir les concepts scientifiques et les outils requis pour une gestion intégrée des zones côtières. La Nouvelle-Calédonie, qui présente un développement urbain croissant depuis ces dernières années et des activités minières (principalement le nickel), a été retenue comme l'un des chantiers du PNEC. Cinq thèmes de recherche complémentaires constituent ce chantier.

Ce travail de DEA s'inscrit dans le deuxième thème : « Fonctionnement biogéochimique du système lagunaire », ayant pour but d'analyser les modifications engendrées par les apports allochtones sur le fonctionnement d'un système naturellement oligotrophe. Il est réalisé au sein de l'unité de recherche CAMELIA (Caractérisation et modélisation des Echanges dans les Lagons soumis aux Influences terrigènes et Anthropiques) qui a choisi le lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie comme site principal pour étudier les mécanismes de transport et de transformation des apports particuliers responsables de l'hypersédimentation, les apports organiques et inorganiques responsables de l'eutrophisation et les apports en métaux potentiellement inhibiteurs. Plus précisément, cette étude s'intègre dans la deuxième action de recherche : « Réponses des biocénoses planctoniques ». En effet, l'étude des bactéries planctoniques, responsables de la transformation et minéralisation de la matière organique dans les écosystèmes aquatiques (boucle microbienne, figure 1), est incontournable pour la compréhension et la détermination des flux de matière.

---

<sup>1</sup> Initiative Internationale pour les Récifs Coralliens. <http://www.icriforum.org>

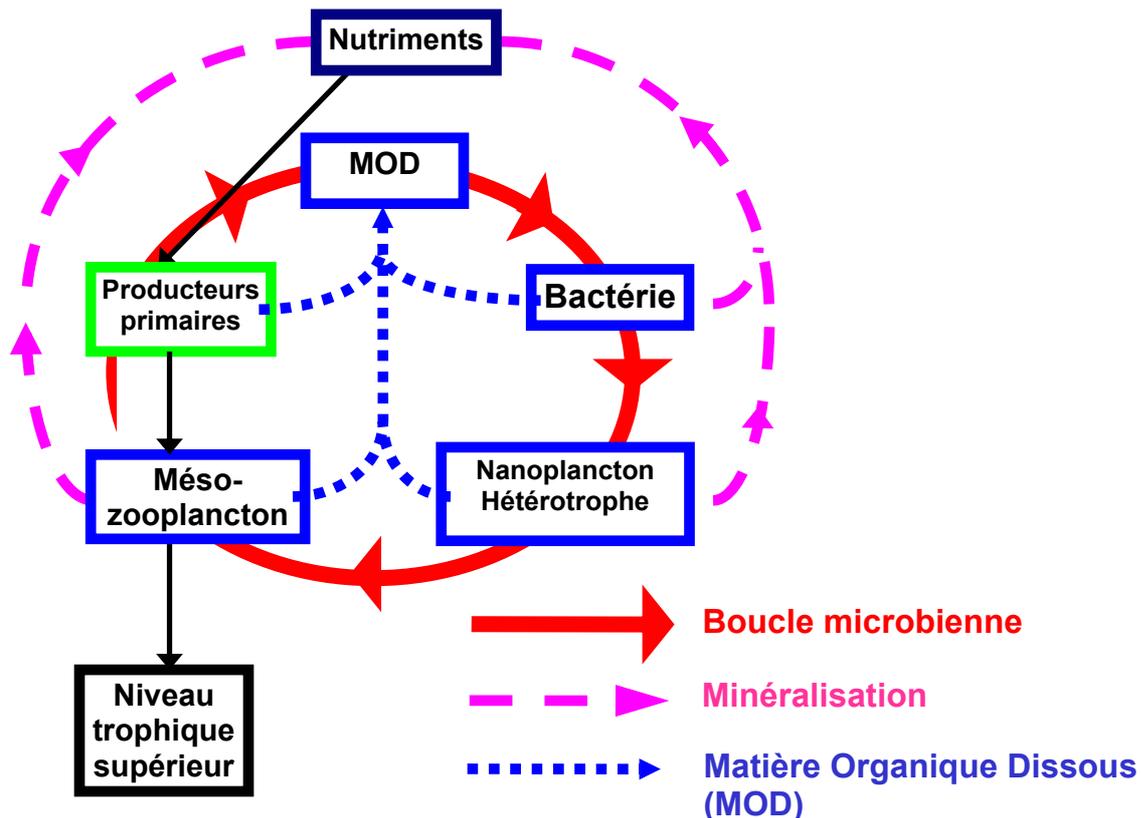


Figure 1 : Réseau trophique planctonique simplifié.

## 1.2 Nécessité de déterminer l'efficacité de croissance bactérienne

La mesure de l'efficacité de croissance des bactéries hétérotrophes (rapport du carbone consommé à la biomasse bactérienne produite) est un paramètre clef dans l'estimation, la compréhension et la modélisation des flux biogéochimiques. Elle permet d'évaluer l'entrée totale de carbone dans le compartiment bactérien, dont une partie seulement aboutira en carbone bactérien, le reste étant principalement respiré et excrété. Ainsi la connaissance de l'efficacité de croissance bactérienne est un prérequis indispensable pour l'évaluation du budget de carbone en milieu aquatique.

## 1.3 Aspects méthodologiques de la détermination de l'efficacité de croissance

L'efficacité de croissance bactérienne peut être déterminée de deux façons différentes.

La première approche consiste à incuber les assemblages bactériens naturels avec un ou plusieurs substrats marqués au  $^{14}\text{C}$ . La comparaison des activités  $^{14}\text{C}$  récupérées dans le matériel particulaire et dans le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) produit permet de calculer un rendement de croissance sur ces substrats.

La seconde approche consiste à mesurer la consommation par les bactéries du stock de matière organique disponible *in situ* et de la comparer à un estimateur de la production bactérienne. Cette approche nécessite un découplage, afin, d'une part, de déterminer spécifiquement la consommation liée aux bactéries hétérotrophes et, d'autre part, de supprimer les sources de matière organique (production primaire, activité des grazers). Ce découplage est généralement réalisé par filtration.

### 1.3.1 Utilisation de substrats marqués

Les premières estimations ont été basées sur l'utilisation de sources simples de carbone par radiotraçage (Hobbie et Crawford, 1969). Malgré, les avantages qu'apporte cette approche (haute sensibilité, temps courts d'incubation, absence de découplage), l'utilisation de composés simples, labiles, n'est pas représentative de la nature du substrat utilisé par les bactéries (Del Giorgio et Cole, 1998). En effet, les bactéries consomment un très large spectre de composés organiques contenus dans le carbone organique dissous (COD). Ainsi cette méthode présente l'inconvénient majeur de surestimer le rendement de croissance bactérien qui peut atteindre jusqu'à 97% selon le substrat utilisé et les conditions de mesure employées (revue de Bjornsen, 1986).

### 1.3.2 Méthodes impliquant un découplage

Dans le second groupe de méthodes, consistant à mesurer la consommation bactérienne du stock de matière organique disponible *in situ*, différents indicateurs de cette consommation ont été proposés : consommation de COD, d'oxygène (O<sub>2</sub>) ou production de CO<sub>2</sub>. Pour toutes ces méthodes il est nécessaire d'employer des temps d'incubation suffisamment longs pour mesurer une variation significative de COD, d'O<sub>2</sub> ou de CO<sub>2</sub>. Ce confinement induit des biais : changement de composition des communautés bactériennes (Massana *et al.*, 2001 ; Gattuso *et al.*, 2002) et épuisement de la ressource trophique (Pradeep Ram *et al.* 2003).

#### *Consommation de COD*

De nombreux auteurs ont déterminé l'efficacité de croissance bactérienne à partir de la consommation de COD (Middelboe *et al.*, 1992 ; Kroer, 1993 ; Zweifel *et al.*, 1993 ; Carlson et Ducklow, 1996). Celle-ci varie de 10 à 60%. Cependant, la fraction consommable de COD (labile) est généralement faible. Dans le lagon sud ouest de la Nouvelle Calédonie, la gamme

des concentrations de COD total s'étend de 26 à 93  $\mu\text{M C}$  et la fraction labile correspond à 11-25% du total (Déliat, 2001). La résolution analytique du COD reste donc encore limitante pour de si faibles concentrations (Sharp *et al.*, 1993), même avec la méthode HTCO (High Temperature Catalytic Oxidation), méthode actuellement la plus sensible (Carlson et Ducklow, 1996). De plus, quelle que soit l'approche, le matériel utilisé (flacons, filtres) est une source de contamination qui peut biaiser les mesures (Carlson et Ducklow, 1996).

La mesure de la consommation d' $\text{O}_2$  ou de production de  $\text{CO}_2$  (Bjornsen, 1986) fournit alors une alternative intéressante à cette mesure de la consommation de COD.

### *Consommation d' $\text{O}_2$*

La méthode chimique, dite méthode de Winkler, reste encore la méthode de référence pour le dosage de l'oxygène dissous. Dans la plupart des études, la respiration est estimée par la différence de la teneur en oxygène en début et en fin d'incubation. Il existe donc une grande incertitude quant à l'évolution de la consommation d'oxygène pendant l'incubation. Pomeroy *et al.* (1994) ont analysé l'évolution de la respiration microbienne sur 24 heures, toutes les 5 heures, par la méthode de Winkler. Leurs résultats ont démontré qu'il est préférable d'estimer la respiration microbienne pendant de courts temps d'incubation (environ 12 heures) afin de se rapprocher des conditions initiales et de suivre son évolution dans le temps avec un nombre important de réplicats (5 à 6).

## 1.4 Variations de l'efficacité de croissance

Cette efficacité de croissance n'est évidemment pas constante. Elle varie au cours de l'année. Par exemple, en milieu tempéré, au nord ouest de la mer Méditerranée, elle s'élève de 0,1% en hiver à 43% en été (Lemée *et al.*, 2002). Elle varie aussi dans l'espace : de 11 à 2% de l'estuaire à l'océan ouvert, d'un côté à l'autre du plateau continental de Georgie (Griffith *et al.*, 1990).

Ces variations dépendent de plusieurs facteurs :

➤ Quantité et qualité de la matière organique dégradable dans le système. Middelboe et Sondergaard (1993) ont ainsi mis en évidence une corrélation positive entre l'efficacité de croissance bactérienne et la fraction labile du carbone organique dissous (le rendement augmente de 8% à 60% selon la labilité du substrat). De plus, l'efficacité de croissance bactérienne dépend du poids moléculaire du carbone organique dissous utilisé :

elle s'élève de 8 à 39% dans les fractions de hauts poids moléculaires et de 14 à 66% dans les fractions de faibles poids moléculaires (Amon et Benner, 1996).

➤ La variabilité du rendement de croissance bactérien dépend aussi de la disponibilité en éléments nutritifs. Kroer (1993) a montré une corrélation négative entre le rendement de croissance et le rapport C/N du substrat utilisé par les bactéries. Ceci suggère qu'une part des variations des efficacités de croissance pourrait être due à des différences de concentration en azote utilisable au sein du substrat carboné. De même, des expériences d'enrichissements effectuées en Méditerranée ont montré que le phosphate lorsqu'il limite la production et respiration bactérienne, engendre alors de faibles efficacités de croissance (Pomeroy *et al.*, 1995).

De nombreux processus sont donc susceptibles de conditionner cette efficacité de croissance et ces processus peuvent eux-mêmes répondre à différents facteurs de contrôle (Del Giorgio et Cole, 1998). D'une manière générale, plus la disponibilité en substrat est bonne (labilité, disponibilité en nutriments), meilleure doit être le rendement de croissance. La production bactérienne de biomasse étant un bon estimateur de cette disponibilité nutritive pour les bactéries hétérotrophes (Billen *et al.*, 1990), on doit pouvoir mettre en évidence une relation positive entre l'efficacité de croissance et production bactérienne. Del Giorgio et Cole (1998) ont montré dans une méta-analyse portant sur un grand nombre de sites une relation positive entre efficacité de croissance et production bactérienne. L'applicabilité d'une telle relation à un milieu donné en ferait un outil précieux pour la modélisation de ses processus biogéochimiques.

## 1.5 Objectif du DEA

Afin d'améliorer les bilans de carbone pour le lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie, il faut connaître le rendement de croissance, notamment son évolution dans les gradients trophiques prononcés. Il est difficile, en effet, d'utiliser des données de la littérature au vu de la grande variabilité de l'efficacité de croissance bactérienne. Ainsi, il est nécessaire d'estimer l'efficacité de croissance bactérienne du milieu étudié, si possible avec une méthode permettant de suivre l'évolution de l'oxygène en continu pendant un temps d'incubation inférieur à 24 heures. La méthode de Winkler couramment utilisée nécessite de longs temps d'incubation (24, 36 ou 72h) des assemblages bactériens pour obtenir des différences significatives. En conséquence, les résultats obtenus sont susceptibles d'être biaisés et donc de

ne pas être représentatifs du milieu initial (changement des communautés, épuisement en ressource trophique).

A notre connaissance, il n'existe pas d'autre méthode de mesure de l'oxygène moins lourde que la technique de Winkler et qui permettrait de s'affranchir des nombreuses incertitudes. Néanmoins, dans le domaine benthique, l'utilisation de microsondes dans la mesure de la consommation d'oxygène par les organismes vivant à l'interface eau - sédiment a largement fait ses preuves. Nous avons donc tenté de mesurer la consommation d'oxygène microbienne au moyen de ces microsondes dans le but d'obtenir une estimation autonome, continue et avec un coût d'acquisition bien moindre.

Le travail de ce DEA a consisté dans un premier temps à définir un protocole expérimental de mesure d'oxygène à l'aide des microsondes afin d'optimiser les estimations de la respiration microbienne en milieu planctonique. Une fois les incertitudes levées et la connaissance des limites de cette nouvelle méthode acquise, l'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité de croissance bactérienne dans des situations trophiques contrastées du lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie. Ceci afin d'examiner si il était possible de mettre en évidence une relation entre l'efficacité de croissance bactérienne et un gradient d'eutrophisation côtier lagonaire à l'image de ce qui a été montré dans la méta-analyse de Del Giorgio et Cole (1998) et qui pourrait être appliquée dans la perspective d'une modélisation des processus biogéochimiques dans le lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie (Faure, 2002).

## 2 Matériels et méthodes

### 2.1 Stratégie d'échantillonnage

#### 2.1.1 Choix du lagon sud ouest de la Nouvelle-Calédonie

La Nouvelle-Calédonie se situe au nord du tropique du Capricorne dans le sud de l'océan Pacifique entre les latitudes 19-23° sud et longitudes 163-168° est. En raison de sa position géographique, la Nouvelle-Calédonie est soumise à un régime semi-tropical maritime qui se caractérise par des variations de températures (de 8°C à 10°C) modestes mais significatives. Deux régimes de vents prédominant : les vents d'Est ou Alizés de direction Est-Sud-Est et Sud-Est prépondérants toute l'année et des coups d'Ouest, plus occasionnels, de direction Nord-Ouest et Sud-Ouest généralement associés au passage des perturbations (dépressions et cyclones). Ces vents conditionnent largement le renouvellement et la circulation des eaux lagunaires (Douillet, 1998).

La principale île, Grande Terre, est entourée d'un récif barrière de 1100 km de long, entaillé par des passes de profondeur comprises entre 10 et 50 m, autour d'un lagon de 23400 km<sup>2</sup> (Labrosse *et al.*, 2000). Le site d'étude privilégié de l'UR CAMELIA est le lagon sud ouest (figure 2), d'une superficie de 2000 km<sup>2</sup> avec des baies peu profondes (environ 10 m). Ce secteur est alimenté en eau douce par trois rivières : les Pirogues, la Coulée et la Dumbéa. Ces dernières transportent les apports urbains, terrigènes, agricoles et miniers qui influencent fortement les baies.

#### 2.1.2 Choix des sites d'échantillonnage

La figure 2 présente la zone d'étude et les stations regroupées par radiale. Le choix des stations s'est fait selon les critères suivants : tout d'abord, la radiale devait respecter un degré d'eutrophisation supposé (par exemple d'un fond de baie vers l'entrée de celle-ci). Ensuite, chaque radiale devait correspondre à des caractéristiques environnementales différentes :

- Radiale Baie de Sainte Marie : zone sous influence anthropique recevant les eaux usées non traitées du quartier de Sainte Marie (N04, N12, N20, N27, N33).
- Radiale Grande Rade : radiale caractérisée par la présence de l'usine pyrométallurgique gérée par la « Société Le Nickel » en fond de baie (D01, D05, D08, D16, D22).

- Radiale Océanique : système lagunaire s'éloignant des influences anthropiques et terrigènes, radiale *a priori* la plus oligotrophe (M03, M05, M08, M10, M12).

Un travail précédent (Jacquet, 2001) a montré que les radiales étudiées correspondaient bien en moyenne aux caractéristiques recherchées.

Nota Bene : la station M33, station régulièrement suivie par l'UR CAMELIA, a aussi été échantillonnée dans le cadre de notre étude.

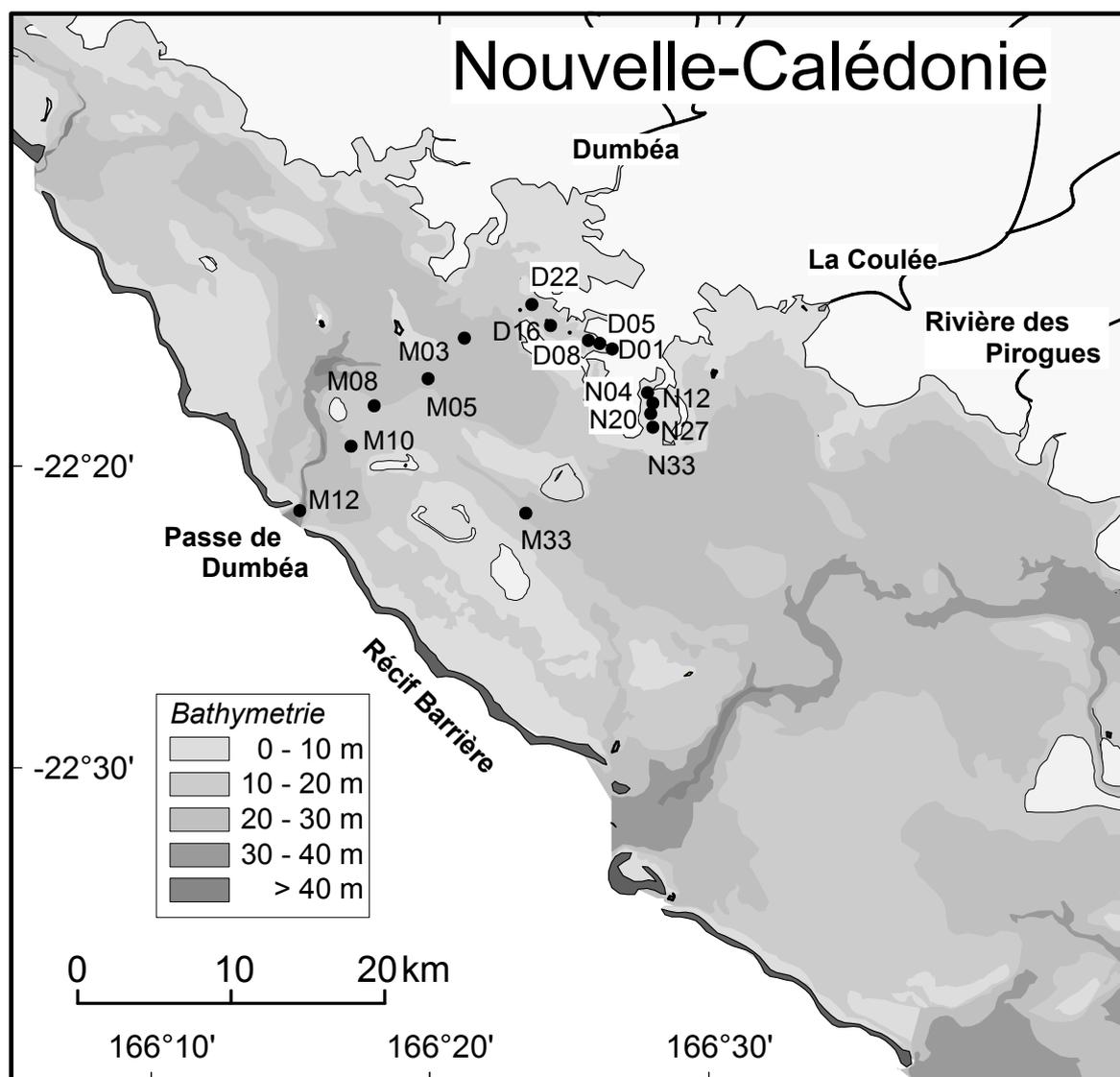


Figure 2 : Zone d'étude et stations d'échantillonnage regroupées par radiale.

### 2.1.3 Manipulation de terrain

L'équipement au laboratoire ne permettait de traiter qu'une seule station par jour pour les mesures de la consommation d'O<sub>2</sub>. Ce qui nous a permis d'étudier une radiale par semaine. Il est évident que cette stratégie d'échantillonnage présente des limites et qu'il aurait

été préférable d'échantillonner toute la radiale le même jour pour être dans les mêmes conditions environnementales.

Chaque sortie en mer à bord du NO Coris, navire de l'IRD, ou d'une embarcation légère en aluminium, consistait à prélever de l'eau à une profondeur de 3 m à l'aide d'une bouteille Niskin de 5 litres. Des campagnes répétées au cours d'un programme précédent ont en effet montré en moyenne l'homogénéité de la colonne d'eau. L'échantillonnage à 3m permettait d'éviter une dessalure de surface après de fortes pluies ou une sursalure suite à une période fortement ensoleillée. Pour chaque prélèvement, une sonde CTD (Conductivity Temperature Depth, Seabird SBE 19), fixée à une corde était descendue manuellement à vitesse régulière, elle acquérait les paramètres hydrologiques (conductivité, température et pression) obtenus par les différents capteurs. Des capteurs supplémentaires ont été utilisés :

- Un fluorimètre qui permet la détermination *in situ* de la concentration en chlorophylle.
- Un capteur de PAR (Photosynthetically Active Radiations) afin de déterminer l'atténuation lumineuse en fonction de la profondeur.
- Un néphélomètre qui mesure la turbidité des eaux traversées par la sonde.

## 2.2 Variables mesurées

### 2.2.1 Chlorophylle a

La chlorophylle *a* a été déterminée par le laboratoire de Chimie Marine de l'IRD. Les mesures ont été effectuées après filtration de 200 ml de l'échantillon sur filtres Whatman GF/F. Les concentrations en chlorophylle *a* ont été déterminées par fluorimétrie (fluorimètre TURNER TD 700) selon la méthode de Yentsch et Menzel (1963). Les concentrations des pigments sont données par la formule de Lorenzen (1966), modifiée par Jeffrey et Humphrey (1975).

*Limite méthodologique* : La teneur chlorophylle *a* peut être considérée comme un estimateur de la biomasse phytoplanctonique. Toutefois, la relation entre la concentration en chlorophylle et le carbone phytoplanctonique n'est pas constante. Cette relation est variable selon l'espèce et l'état physiologique des espèces présentes. Nous avons donc utilisé la concentration en chlorophylle *a* comme un indicateur de l'état d'eutrophisation de la station.

### 2.2.2 Abondance bactérienne

Il existe deux techniques de comptage bactérien : la microscopie et la cytométrie en flux. Les deux méthodes ont pu être appliquées sur l'échantillonnage. Seules les mesures réalisées en microscopie à épifluorescence ont pu être analysées dans le cadre du DEA. Celles de cytométrie en flux seront traitées par J. Blanchot (IRD de la Réunion).

#### *Microscopie à épifluorescence*

Le principe consiste à colorer les bactéries au moyen d'un marqueur fluorescent, les recueillir sur une membrane qui montée entre lame et lamelle, permet d'énumérer les bactéries en microscopie optique. Le marqueur utilisé pour cette étude est le DAPI (4'-diamidino-2-phenylindole), il se fixe sur l'ADN. Quand le complexe ADN-DAPI est excité avec une lumière d'une longueur d'onde comprise entre 330 et 380 nm il fluoresce dans le bleu. Le DAPI fixé sur du matériel non ADN peut fluorescer en jaune pâle. Cette méthode améliore la visualisation des bactéries et leur distinction des cyanobactéries de taille inférieure à 1  $\mu\text{m}$  (Porter et Feig, 1980).

Un volume d'eau (1 ou 10 ml), formolé immédiatement après prélèvement, était déposé dans la tourelle de filtration où avait été disposé un sous-filtre Whatman (membrane en nitrate de cellulose de porosité 0,8  $\mu\text{m}$ ) puis un filtre Nuclepore noir (membrane en polycarbonate de porosité 0,2  $\mu\text{m}$ ). L'échantillon était filtré sous faible dépression ( $10^4$  Pa) jusqu'à laisser 0,5 ml dans la tourelle. Le vide rompu, l'échantillon recevait 4 gouttes de marqueur pendant 10 minutes (concentration finale 10  $\text{mg.l}^{-1}$ ) avant de terminer la filtration. Plus de 400 bactéries ont été dénombrées sur au moins 20 champs pour obtenir un coefficient de variation de la moyenne par champs d'environ 10% (Kirchman *et al.*, 1982).

### 2.2.3 Incorporation de $^3\text{H}$ -thymidine

L'activité bactérienne a été estimée par incorporation de [*methyl*- $^3\text{H}$ ] thymidine (TdR) dans le matériel précipité à l'acide TriChloroAcétique (TCA). La thymidine est un précurseur de la synthèse d'ADN et son incorporation dans le TCA précipité (contenant ADN, ARN, protéines et autres macromolécules) fournit une estimation de la vitesse de synthèse de l'ADN bactérien.

Le protocole suivi était celui de Torréton et Dufour (1996). Des réplicats (2 à 3) de 5 ml ont été réalisés pour toutes les stations, exceptées celles de la radiale Océanique où le volume

prélevé était de 10 ml. Cent  $\mu\text{l}$  de TdR, de concentration finale 15 nM (Amersham, 48 Ci.mmol<sup>-1</sup>), ont été injectés dans des tubes fermés hermétiquement. Des essais préalables ont montré que l'incorporation saturait dès 2 nM (Jacquet, 2001). Les réplicats ont été mis à incuber pendant une heure (linéarité vérifiée au préalable au-delà de 90 minutes) à la température *in situ* ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ). L'incorporation a été arrêtée au formol (37% tamponné au Borate de Na). Pour chaque duplicata, un témoin formolé avant addition de <sup>3</sup>H-thymidine a été réalisé. Après arrêt de l'incubation, les bactéries ont été collectées par filtration sous faible dépression ( $10^4$  Pa) sur membranes en polycarbonate (Nuclepore) de porosité 0,2  $\mu\text{m}$  préalablement imbibées de thymidine non radioactive (10 mM). Le vide était alors rompu et les macromolécules étaient précipitées avec du TCA (5% w/v) dans les tourelles à filtration. Après quinze minutes à 4°C, le vide était rétabli et les membranes étaient rincées trois fois avec 5 ml de TCA 5% froid. Les filtres ont été placés dans des fioles à scintillation avec 4 ml de liquide scintillant. La quantité de radioactivité incorporée par les bactéries a été mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation.

L'autoabsorption dans le précipité TCA des radiations faiblement énergétiques du tritium a été déterminée au cours d'une étude antérieure en incubant une série d'échantillons en double (Jacquet, 2001). L'un des lots a subi une hydrolyse acide à chaud (HCl 0,5 N, 100°C, 30 min) et comparé au traitement standard. Le rapport entre les échantillons hydrolysés et non hydrolysés est de 1,3 en moyenne ( $\sigma = 0,1$ ) et les valeurs des échantillons non hydrolysés ont été multipliés par ce facteur.

*Avantages méthodologiques* : La méthode utilisée présente de nombreux avantages : simplicité des protocoles expérimentaux, incubations de courte durée (1h), grande sensibilité de la mesure, incorporation spécifique des bactéries aux concentrations utilisées (seules les bactéries hétérotrophes possèdent des transporteurs de thymidine), manipulations limitées de l'échantillon.

#### 2.2.4 Respiration communautaire et bactérienne

L'eau prélevée a été tamisée au préalable sur une maille de 125  $\mu\text{m}$  afin d'éliminer les plus gros organismes, rares, et donc susceptibles d'augmenter la variabilité de la consommation d'O<sub>2</sub> dans la communauté totale<sup>2</sup>. Cette eau était répartie en deux flacons : un échantillon d'eau de mer non filtrée (F<sub>T</sub>) dans lequel a été mesurée la respiration communautaire et un échantillon d'eau de mer filtrée sur 0,6  $\mu\text{m}$  (F<sub>F</sub>) dans lequel a été

---

<sup>2</sup> Les résultats de la communauté totale ne sont pas exploités dans le cadre de ce DEA

mesurée la respiration bactérienne. Les flacons, les sondes, les bouchons et les barreaux magnétiques d'agitation étaient lavés à l'acide avant chaque mesure.

### *Appareillage*

La respiration a été mesurée en continue à l'aide de microélectrodes à oxygène avec une « guard cathode » (Revsbech, 1989). Cette électrode de garde permet au dispositif de ne pas consommer d'oxygène. L'électrode a un temps de réponse très rapide (moins de 1 seconde) et une sensibilité de 0,1  $\mu\text{M}$  (Revsbech, 1989).

### *Dispositif expérimental*

Les deux flacons étaient fermés hermétiquement par un bouchon de silicone percé par lequel étaient introduites les microsondes (figure 3). Les flacons étaient ensuite immergés dans le bain thermostaté à température *in situ* ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ). Des agitateurs magnétiques permettaient l'homogénéisation dans les flacons.

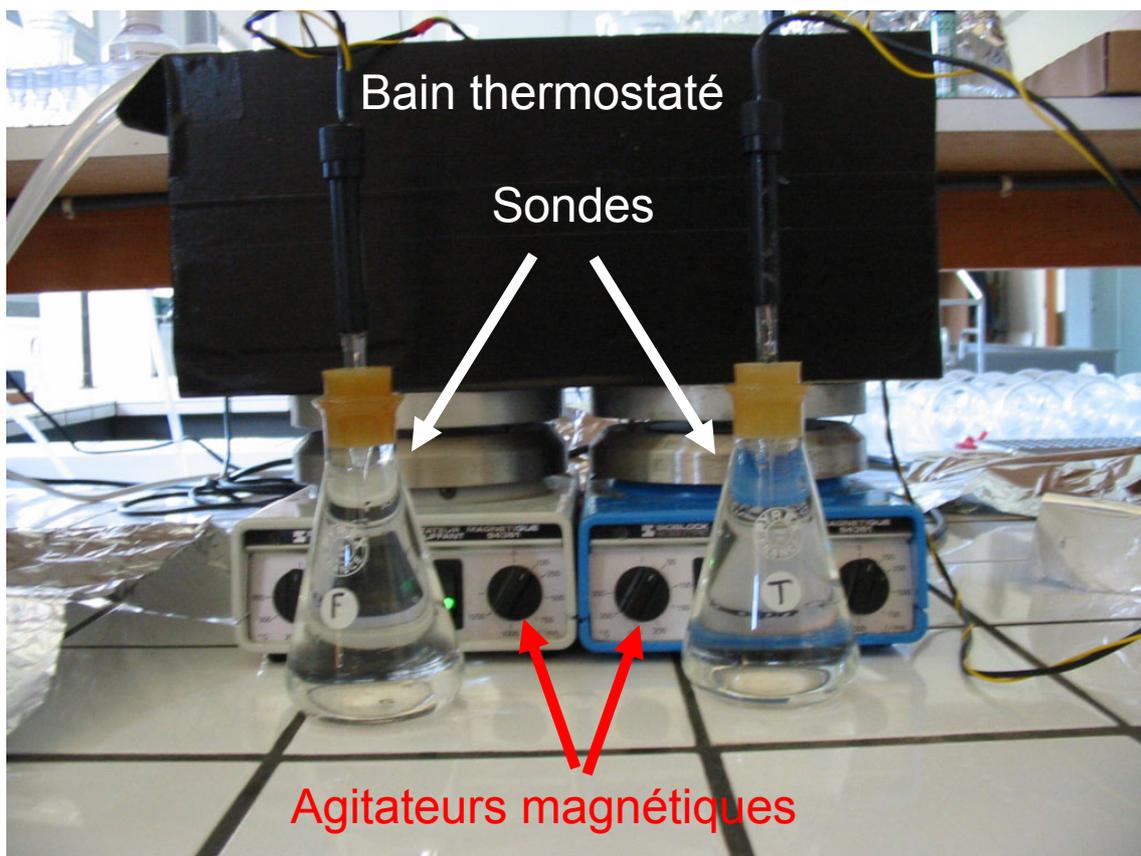


Figure 3 : Dispositif expérimental de la mesure de la respiration bactérienne.

Les données de concentration d'oxygène ont été récupérées par un ordinateur avec un pas de temps de 10 secondes. Les flacons ont été incubés à l'obscurité pendant 14 heures (radiales

Sainte Marie et Grande Rade) ou 24 heures (radiale Océanique). A la fin de l'incubation, de l'eau était prélevée afin de mesurer l'incorporation de thymidine et l'abondance bactérienne.

#### *Méthodes de détermination de la consommation d'O<sub>2</sub>*

- Mesures continues

Par cette méthode, la respiration a été calculée avec la pente mesurée sur un intervalle de temps de 5 heures, temps supposé suffisamment court pour avoir une production et une abondance bactérienne constante au cours du temps considéré. Le début de l'intervalle était choisi dès l'observation d'une décroissance en O<sub>2</sub> significative (soit 1 μM).

- Mesures discrètes

Dans ce cas, la respiration était égale à la différence de teneur d'oxygène entre la fin et le début de l'incubation.

La conversion de la mesure de respiration (μM O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>) en μg C.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> a été faite en utilisant un quotient respiratoire égal à 1.

#### 2.2.5 Efficacité de croissance

L'efficacité de croissance des bactéries hétérotrophes (ECB) est le rapport du carbone consommé à la biomasse bactérienne produite. Elle a été calculée de deux façons.

*En fonction de la production bactérienne initiale de l'échantillon filtré estimée par l'incorporation de <sup>3</sup>H-thymidine*

$$ECB(\%) = \frac{PB}{(PB + RB)} \times 100 \tag{1}$$

avec : PB : production bactérienne au temps t0 (μg C.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>)

RB : respiration bactérienne mesurée pendant l'incubation (μg C.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>)

La production en μg C bactérien (PB) a été calculée en utilisant deux facteurs de conversion. FC<sub>1</sub> permet de convertir l'incorporation de <sup>3</sup>H-thymidine (pM.h<sup>-1</sup>) en nombre de cellule.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, FC<sub>1</sub> = 2,91.10<sup>18</sup> cell.mol<sup>-1</sup> (facteur de conversion mesuré par Jacquet, 2001).

$FC_2 = 20 \text{ fg C.cell}^{-1}$  (Lee et Furhman, 1987) permet de convertir le nombre de cellules en  $\mu\text{g C bactérien.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$ .

*En fonction de la production de biomasse bactérienne nette*

De même ECB a été mesurée en considérant la production de biomasse bactérienne nette ( $PBB_{\text{nette}}$ ), estimée à partir de la différence de biomasse carbonée mesurée entre le début et la fin de l'incubation ( $\mu\text{g C.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ).

$$ECB(\%) = \frac{PBB_{\text{nette}}}{(PBB_{\text{nette}} + RB)} \times 100 \quad (2)$$

La conversion de l'abondance bactérienne ( $10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ ) en biomasse carbonée ( $\mu\text{g C.l}^{-1}$ ) a été faite en utilisant le facteur de conversion de  $20 \text{ fg C.cell}^{-1}$  (Lee et Furhman, 1987). Ce facteur de conversion s'applique pour les bactéries de biovolume compris entre 0,036 et 0,073  $\mu\text{m}^3$  (0,41 - 0,52  $\mu\text{m}$  de diamètre équivalent sphérique).

## 2.3 Traitements statistiques

### 2.3.1 Coefficient de corrélation de rang de Spearman

Le coefficient de corrélation non paramétrique permet de mettre en évidence toute relation monotone croissante ou décroissante, linéaire ou non entre deux variables quantitatives ou semi-quantitatives (Scherrer, 1984). Le coefficient de corrélation de rang de Spearman,  $r_s$ , indique le degré de liaison existant entre le classement des éléments selon la variable x et le classement des éléments selon y. Ce coefficient a été calculé pour déterminer le degré de liaison entre l'ordre des stations et les variables déterminées afin de tester la présence des gradients le long des radiales échantillonnées.

### 2.3.2 Coefficient de corrélation linéaire : $r^2$

Ce coefficient mesure la proportion de la variation de y expliquée par la variation de x (Scherrer, 1984). Il a été comparé aux valeurs critiques du coefficient de corrélation afin de déterminer une éventuelle corrélation entre les différentes variables mesurées.

### 3 Résultats – Discussion

L'objectif premier de cette étude était de définir un protocole expérimental de mesure d'oxygène à l'aide des microsondes. Des expériences préliminaires ont donc été nécessaires afin de connaître les avantages et limites de cette méthode.

#### 3.1 Approche méthodologique

##### 3.1.1 Consommation de la sonde

Dans le but de s'assurer que la consommation d'oxygène par les sondes était négligeable au regard de la consommation bactérienne, nous avons suivi les teneurs en oxygène de deux flacons sur 24 heures. D'une part, une sonde était immergée dans un échantillon d'eau de mer de la station N12 filtrée sur 0,6  $\mu\text{m}$  et, d'autre part, la seconde sonde mesurait la teneur en oxygène de l'échantillon d'eau de mer de la même station mais filtrée sur 0,2  $\mu\text{m}$ . Le deuxième échantillon filtré sur 0,2  $\mu\text{m}$  a donc été débarrassé de toute biomasse bactérienne.

La teneur en oxygène du flacon d'eau de mer filtrée sur 0,2  $\mu\text{m}$  était constante (215  $\mu\text{M O}_2$ ) de 0 à 15 heures d'incubation (figure 4). La diminution observée après 15 heures d'incubation était due à une contamination du flacon. En effet, les sondes et flacons ont été nettoyés au préalable à l'acide mais n'ont pas été stérilisés pour des raisons pratiques.

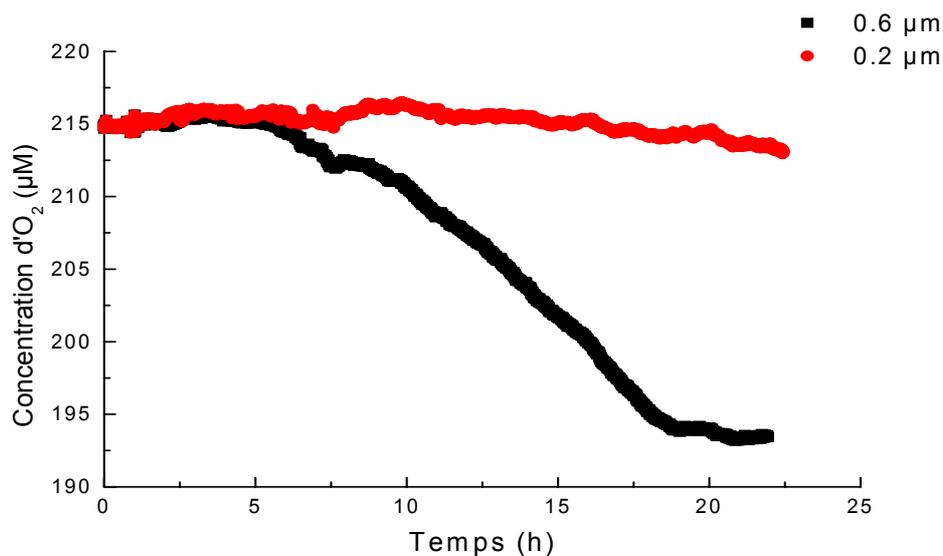


Figure 4 : Evolution de la concentration d'oxygène en fonction du temps des échantillons de la station N12 filtrés sur 0,6  $\mu\text{m}$  et 0,2  $\mu\text{m}$ .

Cette contamination résiduelle, due au fait qu'on ne peut pas stériliser le dispositif expérimental, est très vraisemblablement négligeable pour des échantillons filtrés sur  $0,6 \mu\text{m}$  contenant un nombre important de bactéries. Ainsi, la diminution observée, à partir de 5 heures d'incubation, de la concentration d'oxygène de l'échantillon qui contenait des bactéries ( $0,6 \mu\text{m}$ ) était due à une consommation d'oxygène par les bactéries initialement présentes.

### 3.1.2 Reproductibilité de la réponse

Dans les méthodes de mesure de l'oxygène couramment utilisées, telle que la méthode de Winkler, de nombreux réplicats sont effectués. Dans notre cas, il était techniquement impossible de suivre l'évolution de la consommation d'oxygène dans plusieurs réplicats. En effet, nous ne disposons que d'un seul picoampèremètre à deux canaux (un canal pour la respiration communautaire et un canal pour la respiration bactérienne). Afin de vérifier la bonne reproductibilité de la réponse des sondes, nous avons suivi l'évolution de la teneur en oxygène dans deux flacons d'eau de mer prélevée le même jour, à la même station (N12).

La figure 5, montre l'évolution de la concentration d'oxygène dans les flacons. Les sondes ont donné la même évolution dans les deux flacons, distincts et remplis de la même eau. Des résultats similaires ont été obtenus en stations oligotrophes (données non montrées). Ceci nous a donc permis de nous abstenir de faire des réplicats par la suite.

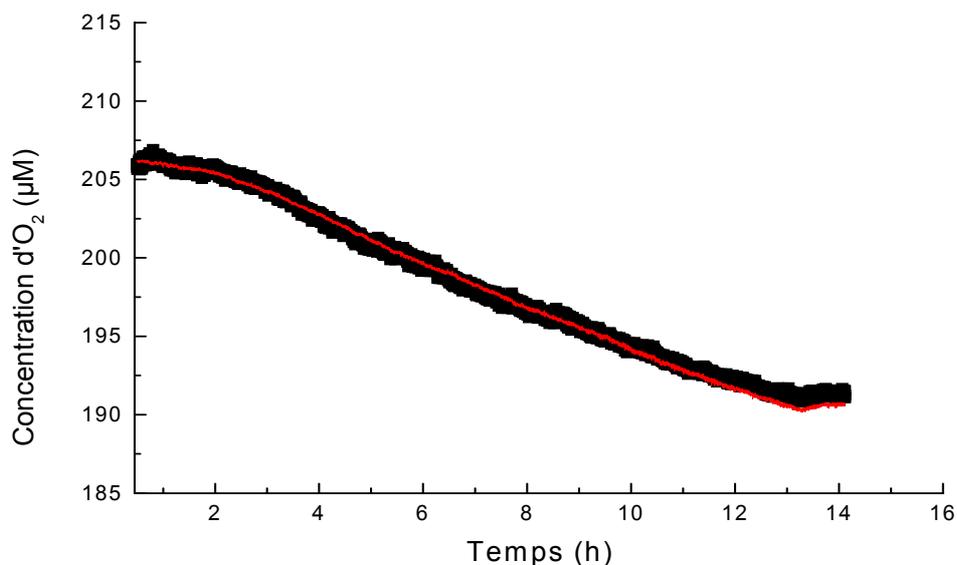


Figure 5 : Evolution de la concentration d'oxygène en fonction du temps de deux échantillons d'eau de mer filtrée sur  $0,6 \mu\text{m}$  de la station N12.

### 3.1.3 Temps d'incubation

Avant l'échantillonnage de nos radiales, il était nécessaire de déterminer le temps d'incubation suffisant avant d'obtenir un signal significatif (diminution d'au moins 1  $\mu\text{M O}_2$ ). Nous avons donc effectué des suivis continus de la teneur en oxygène dans les flacons pendant 24 heures. Le temps d'incubation est fonction de l'état trophique du milieu. Nous avons donc choisi deux stations d'état trophique contrasté (M10, station oligotrophe et D01, station eutrophe).

La diminution d'oxygène dans le flacon de la station oligotrophe n'apparaît qu'au bout de 8 à 9 heures d'incubation (figure 6). Alors qu'en station eutrophe, il suffit de 3 à 4 heures d'incubation avant d'observer une consommation d'oxygène significative. Ces résultats nous ont permis de mettre au point notre protocole. Nous avons donc choisi d'incuber 24 heures les échantillons des stations oligotrophes (radiale Océanique) et 14 heures ceux des stations eutrophes (radiales Sainte Marie et Grande Rade). Ceci dans le but d'incuber le moins longtemps possible afin d'être le plus proche des conditions initiales et donc de minimiser i) les conséquences du confinement, ii) les possibles contaminations et iii) les risques d'épuisement en sels nutritifs ou en substrats carbonés.

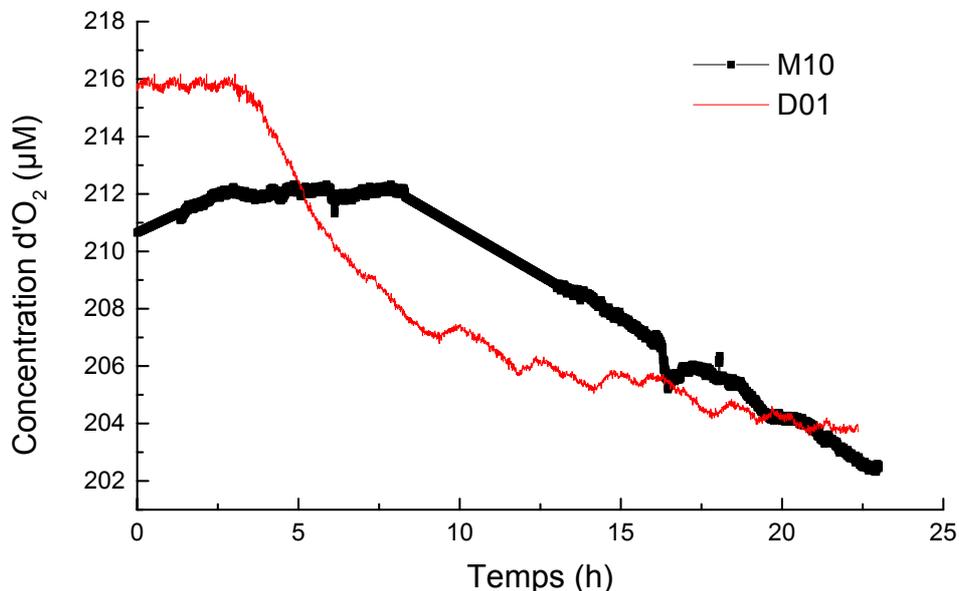


Figure 6 : Evolution de la concentration d'oxygène en fonction du temps des échantillons des stations M10 et D01 filtrés sur 0,6  $\mu\text{m}$ .

Parallèlement à ces flacons, dans lesquels était suivie en continu la consommation d'oxygène, nous avons incubé dans les mêmes conditions (à l'obscurité et à température *in situ*) des

flacons de la même eau. Des prélèvements toutes les 3 heures (pour la station D01) et toutes les 5 heures (pour la station M10) ont été effectués afin de suivre l'incorporation de  $^3\text{H}$ -thymidine et l'abondance bactérienne (figure 7).

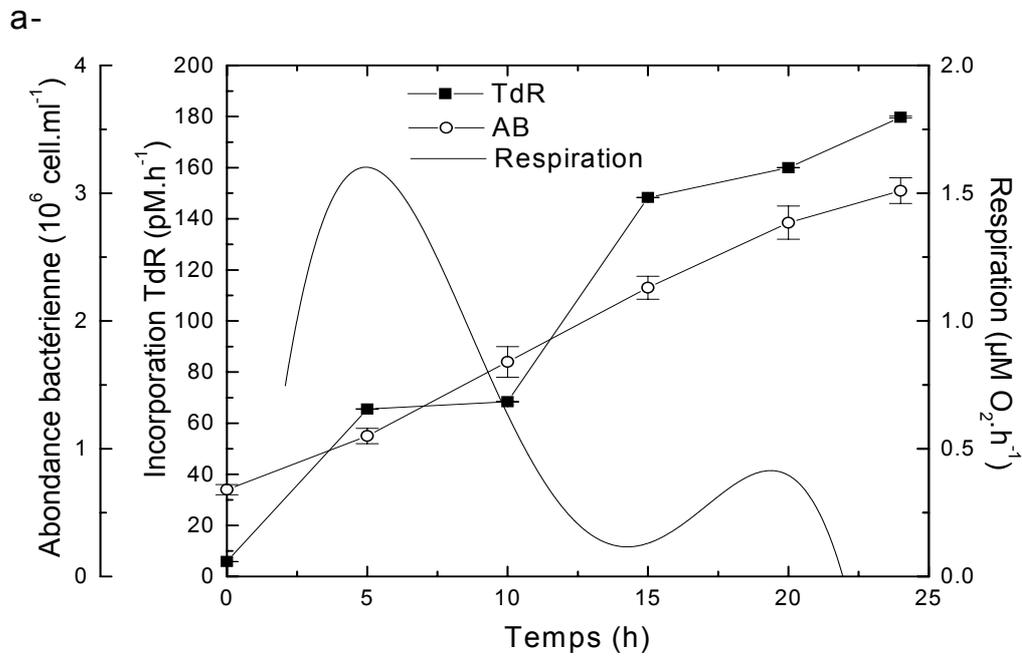


Figure 7.a : Suivi au cours du temps de l'abondance bactérienne (AB), incorporation de  $^3\text{H}$ -thymidine TdR) et de la respiration de la station D01. La respiration a été calculée en ajustant un polynôme d'ordre 5 aux données de concentration d'oxygène et en calculant la première dérivée de ce polynôme.

En D01 (figure 7.a), l'incorporation de thymidine et l'abondance bactérienne augmentent fortement et de façon constante au cours du temps. L'incorporation de thymidine évolue de 6 à  $180 \text{ pM.h}^{-1}$  en 24 heures d'incubation et l'abondance bactérienne atteint jusqu'à 5 fois sa valeur initiale en fin d'incubation ( $0,6.10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$  en début d'incubation à  $3.10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$  en fin d'incubation). La respiration après un pic à 5 heures d'incubation ( $1,6 \mu\text{M O}_2.\text{h}^{-1}$ ), chute jusqu'à devenir pratiquement nulle après 15 heures d'incubation. Cependant l'incorporation de thymidine et l'abondance bactérienne augmentent encore. Les bactéries ne seraient donc pas limitées par un épuisement de la ressource trophique. Néanmoins nous pouvons émettre l'hypothèse que des changements de communautés se seraient effectués lors de l'incubation, communautés qui seraient alors mieux adaptées à ce nouvel environnement.

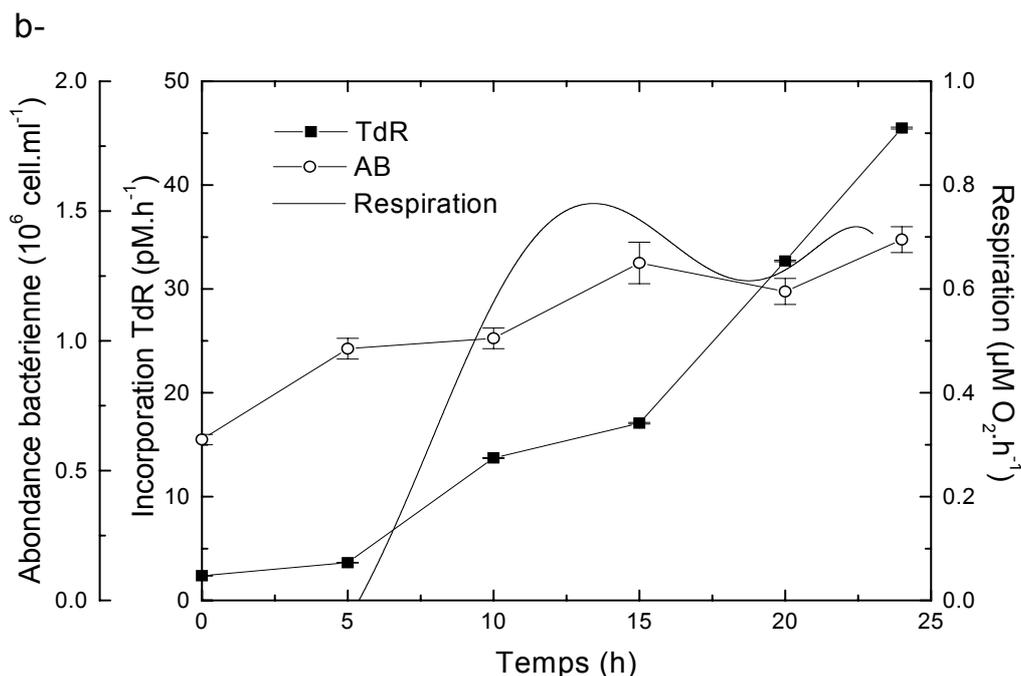


Figure 7.b : Suivi au cours du temps de l'abondance bactérienne (AB), incorporation de <sup>3</sup>H-thymidine TdR) et de la respiration de la station M10. La respiration a été calculée en ajustant un polynôme d'ordre 7 et en calculant la première dérivée de ce polynôme.

En station oligotrophe (figure 7.b), la respiration et l'incorporation de thymidine augmentent de façon significative à partir de 5 heures d'incubation (respectivement de 0 μM O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup> / 4 pM TdR.h<sup>-1</sup> après 5 heures d'incubation à 0,75 μM O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup> / 15 pM TdR.h<sup>-1</sup> après 15 heures d'incubation). Le nombre de bactérie est multiplié par 2,5 au bout de 24 heures (de 0,55.10<sup>6</sup> cell.ml<sup>-1</sup> à 1,4.10<sup>6</sup> cell.ml<sup>-1</sup>). Après 15 heures d'incubation, la respiration semble constante (0,7 μM O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>). L'abondance bactérienne suit cette évolution et atteint elle aussi un plateau. Alors que l'incorporation de thymidine continue d'augmenter jusqu'à atteindre 45 pM TdR.h<sup>-1</sup> en fin d'incubation, c'est-à-dire environ 20 fois la valeur observée au début.

Ces suivis nous ont permis de définir les temps d'incubation nécessaires pour mesurer la consommation d'oxygène par les bactéries hétérotrophes aux stations oligotrophes et eutrophes. De plus, les mesures d'incorporation de <sup>3</sup>H-thymidine et d'abondance bactérienne nous ont permis de rendre compte d'une limite de cette méthode. En effet, il faut rester prudent quant à l'interprétation des résultats, être conscient que ce qui est mesuré est plus représentatif de ce qui se passe durant l'incubation dans le flacon, que ce qui se passe réellement *in situ*. Le suivi en M10 montre clairement que la respiration n'est mesurable qu'à

partir du moment où l'abondance bactérienne et l'incorporation de thymidine augmentent. Ceci peut être dû au confinement (adsorption et concentration de la matière organique des surfaces, facilitant son utilisation par les bactéries) ou à des changements de communautés qui seraient mieux adaptées à ces nouvelles conditions. Biddanda *et al.* (1994) ont trouvé également de telles augmentations lors d'incubation d'eau de productivités différentes : eau du plateau continental (hautement productif) et eau de la pente (milieu plus oligotrophe) du nord du Golfe du Mexique. Au bout de 20 heures d'incubation, la production bactérienne augmente d'un facteur 12 dans les eaux enrichies du plateau (de 0,5 à 6  $\mu\text{g C.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) et d'un facteur 8 au niveau de la pente (0,5 à 4  $\mu\text{g C.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ). De même, l'abondance bactérienne en station eutrophe augmente de 1 à  $1,5 \cdot 10^9 \text{ cell.l}^{-1}$  en 20 heures, alors que l'abondance bactérienne en station plus oligotrophe reste constante ( $0,7 \pm 0,3 \cdot 10^9 \text{ cell.l}^{-1}$ ). En conséquence, lors de ces incubations le milieu évolue et les mesures ne sont plus spécifiques des conditions initiales. Il est donc préférable d'incuber sur un temps assez court afin de se rapprocher le plus possible des conditions initiales et de limiter les conséquences du confinement : augmentations de l'activité bactérienne (incorporation de thymidine) et du nombre de cellule liées à une augmentation de la respiration.

#### 3.1.4 Mesures discrètes et en continu

La respiration bactérienne a été mesurée de deux façons. La première méthode (mesure continue,  $R_C$ ) consistait à calculer la pente sur environ 5 heures dès qu'un signal significatif (diminution d'au moins 1  $\mu\text{M d'O}_2$ ) était observé. Cette mesure s'est faite grâce au suivi en continu de la teneur en oxygène par les microsondes. Alors que par la mesure discrète ( $R_D$ ), la respiration était estimée en calculant la différence de concentration d'oxygène entre le début et la fin de l'incubation, à l'image de ce qui est réalisé par la méthode de Winkler. Selon l'évolution de la concentration d'oxygène dans le flacon, 4 modèles types ont pu être définis (figure 8). Les respirations mesurées par la méthode discrète pouvaient être à peu près égales à celles mesurées par la méthode continue (cas a), inférieures (cas b et d) ou supérieures (cas c). Nous avons échantillonné 27 stations au total. Le suivi de la concentration d'oxygène de chaque station a été classé dans le modèle qui se rapprochait le plus de la tendance observée.

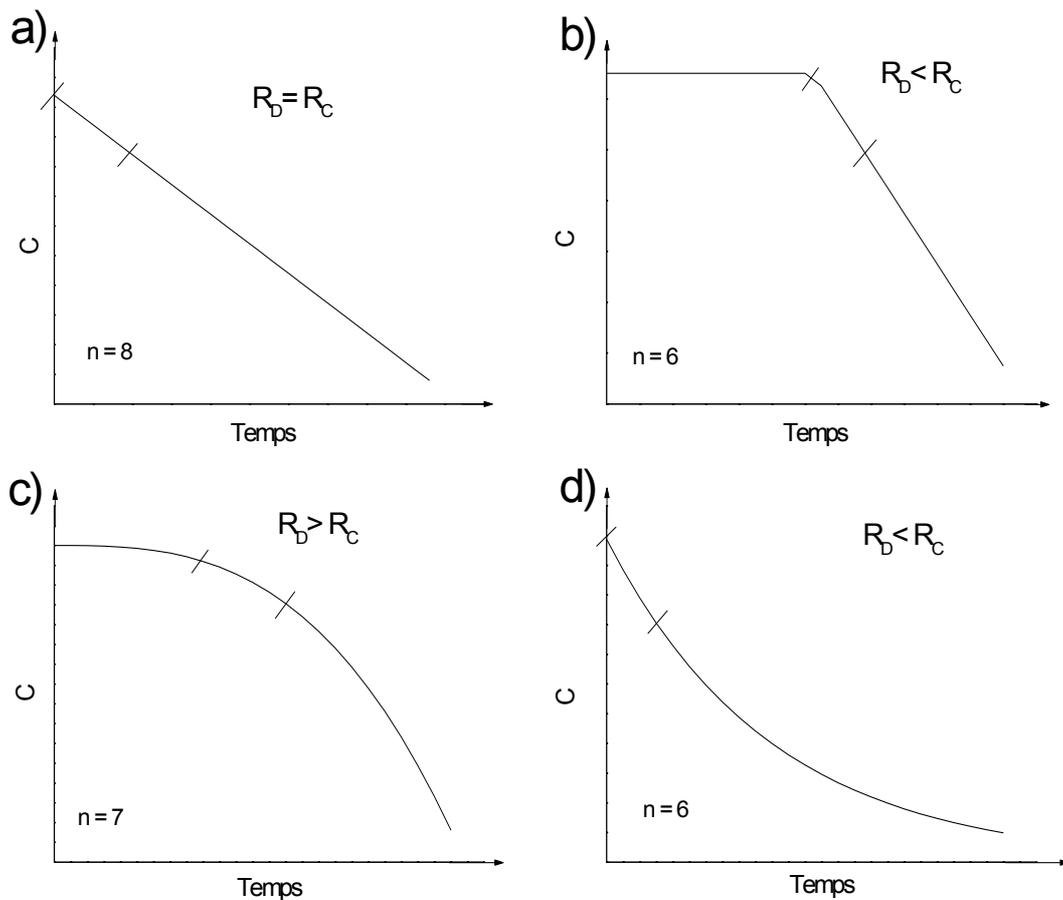


Figure 8 : Représentation des différents modèles d'évolution de la concentration d'oxygène (C en  $\mu\text{M O}_2$ ) en fonction du temps (h). n représente le nombre de cas rencontrés lors de la période d'échantillonnage présentant cette évolution,  $R_D$  correspond à la respiration mesurée par la méthode discrète et  $R_C$  celle mesurée par la méthode continue. Les deux traits indiquent l'intervalle de temps (5 heures) utilisé pour calculer  $R_C$ .

*Modèle a ( $R_D = R_C$ )*

Huit cas sur 27 ont présenté une consommation constante au cours du temps. Dans ce cas la respiration mesurée par la méthode discrète est peu différente de celle mesurée par la méthode continue.

*Modèle b ( $R_D < R_C$ )*

Le modèle b présente un temps de latence plus ou moins important (de 5 à 10 heures) avant que la concentration d'oxygène ne diminue. La  $R_C$  mesurée sur un temps court (5 heures) à la suite de ce temps de latence est donc supérieure à la  $R_D$ . Ce modèle est généralement caractéristique des milieux oligotrophes (sur les 6 cas observés, 4 sont des stations de la radiale océanique). Ainsi, nous pouvons émettre l'hypothèse que les sondes ne

détecteraient pas les faibles consommations d'oxygène de ces milieux particulièrement pauvres. Mais celles-ci deviendraient sensibles lorsque l'activité et l'abondance bactérienne ont suffisamment augmenté pour induire une respiration détectable. Ainsi, les mesures obtenues de respiration ne seraient pas caractéristiques du milieu initialement échantillonné mais plutôt des changements structurels et communautaires résultants de l'incubation dans le flacon.

*Modèle c ( $R_D > R_C$ )*

La consommation augmente au cours du temps du fait d'une augmentation de biomasse. Ayant décidé de mesurer la respiration, selon la méthode continue, dès l'observation d'une diminution significative de la pente, le résultat trouvé était inférieur à celui trouvé par la méthode discrète.

*Modèle d ( $R_D < R_C$ )*

La pente est importante dès le début de l'incubation, démontrant une forte activité du milieu (les 6 cas sont des échantillons de stations eutrophes). Puis la consommation diminue et devient faible. Cet amortissement peut s'expliquer par un épuisement des ressources trophiques qui atténuerait l'activité des bactéries hétérotrophes. Dans ce cas  $R_C$  est mesurée sur les 5 premières heures et est donc supérieure à la respiration mesurée par la méthode discrète.

Ces différents modèles montrent bien la variabilité de la cinétique de décroissance de l' $O_2$ . Même si les modèles b et d peuvent être attribués, dans le cas de notre étude, respectivement à des stations oligotrophes et à des stations eutrophes, nous ne pouvons attribuer un modèle à une station caractéristique. Ce résultat démontre la nécessité de suivre en continu la consommation d'oxygène des microorganismes planctoniques. Pomeroy *et al.* (1994) ont également observé différentes évolutions de la concentration d'oxygène au cours d'incubations de 24 heures avec des mesures discrètes d'un pas de temps de 5 heures. Un tiers de leurs 21 données ne montraient pas de diminution linéaire de la teneur en oxygène au cours de l'incubation, ce qui les a conduit à recommander de suivre de façon continue la respiration au cours du temps.

### 3.1.5 Conclusion

Les microsondes à oxygène, non consommatrices d'oxygène sont très sensibles et précises. Elles permettent de suivre en continu la respiration des bactéries hétérotrophes, ce qui était jusqu'alors pratiquement impossible par les méthodes couramment utilisées. Ces suivis continus nous ont permis de mettre en évidence que le début de la consommation en oxygène était lié à une plus forte activité des microorganismes (incorporation de  $^3\text{H}$ -thymidine) et à une augmentation du nombre de cellules. C'est pourquoi nous avons décidé de mesurer cette respiration dès l'observation de ce signal afin de se rapprocher le plus possible des conditions initiales. Cependant cette technique n'offre pas une sensibilité suffisamment forte pour mesurer la consommation d' $\text{O}_2$  en milieu oligotrophe avec des temps d'incubation courts.

Le second objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité de croissance bactérienne dans des situations trophiques contrastées du lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie et d'examiner si il était possible de mettre en évidence une relation entre l'efficacité de croissance bactérienne et un gradient d'eutrophisation côtier lagonaire.

### 3.2 Efficacité de croissance et gradients trophiques

#### 3.2.1 Gradients trophiques le long des radiales suivies

La concentration en chlorophylle *a* a été choisie comme indicateur de l'état trophique des stations. La présence d'un gradient trophique le long de chaque radiale a été testée en effectuant des corrélations de rang de Spearman (Scherrer, 1984). Aucune radiale ne présentait de relation entre la distance des stations à la côte et les valeurs de concentrations de chlorophylle *a* mesurées (figure 9).

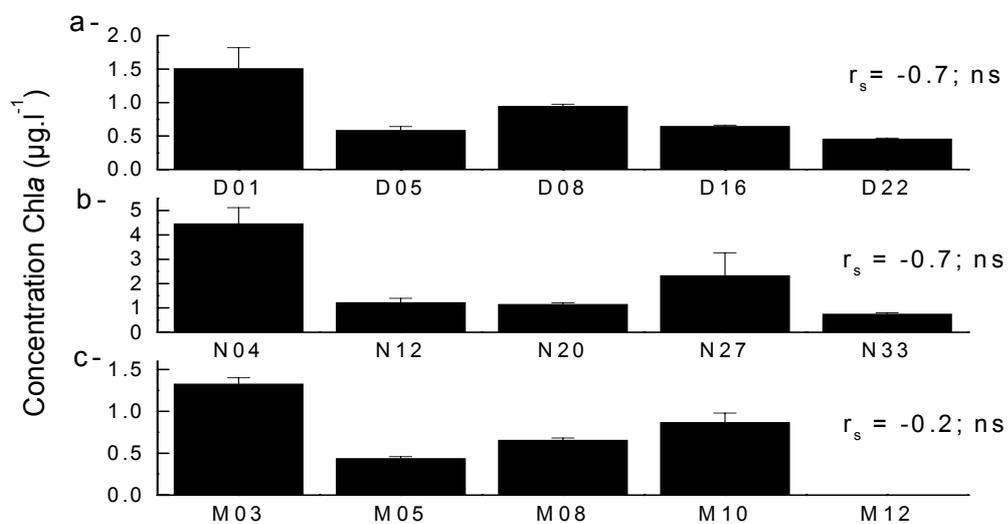


Figure 9 : Concentration de chlorophylle *a* des radiales Grande Rade (a), Sainte Marie (b) et Océanique (c). La station M12 n'a pu être échantillonnée.  $r_s$  : coefficient de corrélation de rang de Spearman. ns : non significatif.

La concentration en Chla d'un milieu, comme indicateur de son état trophique, est la plus usuellement utilisée car la plus facile à mettre en oeuvre. Cependant, il est possible aussi d'utiliser l'incorporation de TdR comme indicateur de l'état trophique d'un milieu. Dans notre étude il serait d'ailleurs plus adapté de l'utiliser puisqu'il représente l'activité des bactéries hétérotrophes étudiées ce qui reflète bien la richesse du milieu (Billen *et al.*, 1990). La présence d'un gradient trophique (selon l'incorporation de thymidine) le long de chaque radiale a aussi été testée en effectuant des corrélations de rang de Spearman. Comme observé avec la variable Chla, aucune radiale ne présentait de relation entre la distance des stations à la côte et les valeurs d'incorporation de TdR mesurées (figure 10).

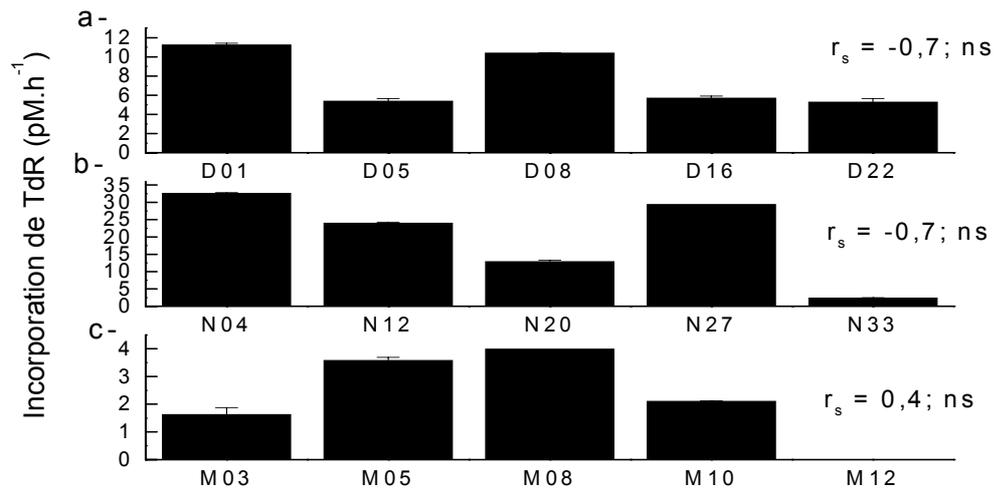


Figure 10 : Incorporation de TdR des radiales Grande Rade (a), Sainte Marie (b) et Océanique (c). La station M12 n'a pu être échantillonnée.  $r_s$  : coefficient de rang de Spearman. ns : non significatif.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer ce phénomène. D'une part, notre stratégie d'échantillonnage ne nous permettait pas de prélever les différentes stations d'une même radiale le même jour. De plus, il existe une grande variabilité temporelle des caractéristiques hydrobiologiques du lagon (*cf* 3.2.2), les conditions environnementales pouvant changer d'un jour à l'autre. D'autre part, notre période d'échantillonnage prédéterminée (du 17/03 au 4/04), s'est déroulée à la suite du passage du cyclone Erica qui s'est abattu sur la Nouvelle-Calédonie le 14/03. Les concentrations de Chl $a$  à ces stations ont donc été influencées par le cyclone et étaient beaucoup plus fortes que les concentrations rencontrées habituellement (augmentation d'un facteur 4 à 5 pour la radiale Océanique). Le cyclone a provoqué une remise en suspension des sédiments libérant les sels nutritifs interstitiels qui ont alors stimulé la production planctonique. Les données obtenues sont donc atypiques et ne reflètent pas les conditions hydrobiologiques habituellement observées au lagon sud ouest. Cependant, si l'on considère toutes les stations échantillonnées durant ce stage, nous avons bien une gamme de situations trophiques très contrastée, les valeurs de Chl $a$  s'échelonnant de 0,4 à 4,5  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (figure 11) et celles d'incorporation de TdR de 0,5  $\text{pM.h}^{-1}$  à 33  $\text{pM.h}^{-1}$  (figure 12).

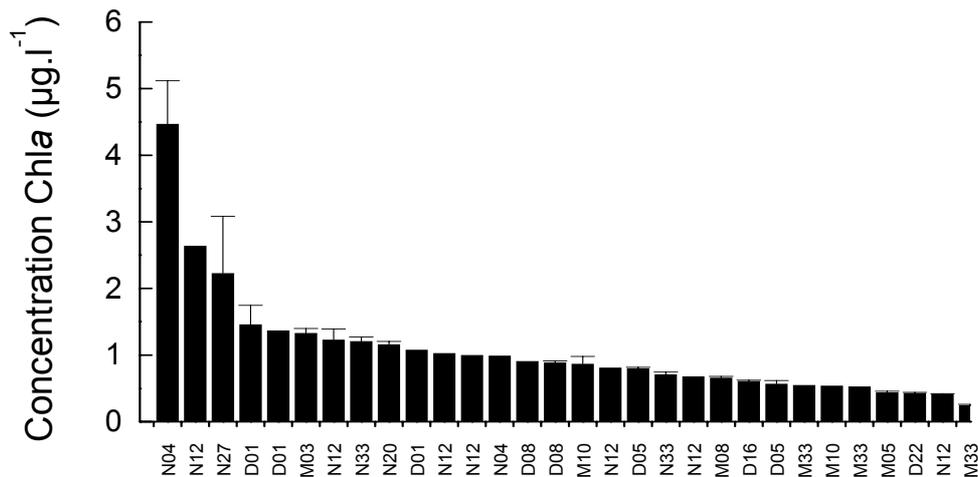


Figure 11 : Distribution des concentrations de chlorophylle *a* rencontrées pendant la période d'échantillonnage.

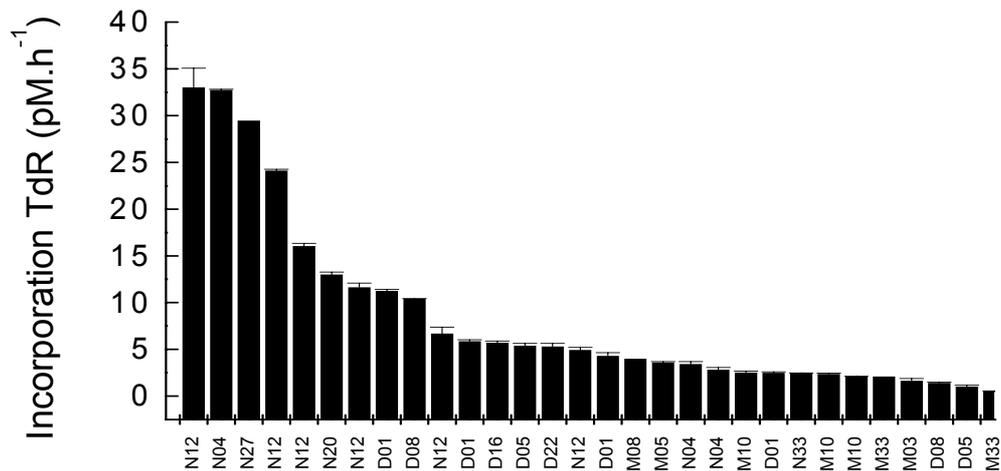


Figure 12 : Distribution des valeurs d'incorporation de TdR rencontrées lors de la période d'échantillonnage.

Les variables mesurées (sauf l'abondance bactérienne) sont significativement reliées à la Chla (tableau 1). De même, Biddanda *et al.* (2001), montrent des relations significatives entre ces mêmes paramètres et un gradient de Chla. Leurs relations se vérifient dans une très large gamme trophique (de 0,57 à 52,70 µg Chla.l<sup>-1</sup>). Par contre, l'abondance bactérienne et la consommation d'oxygène ne sont pas reliées à la gamme contrastée des valeurs d'incorporation de TdR (tableau 1).

	Incorporation de $^3\text{H}$ -thymidine ( $\mu\text{M}\cdot\text{h}^{-1}$ )	Abondance bactérienne ( $10^6$ cell.ml $^{-1}$ )	<sup>a</sup> Consommation d'O <sub>2</sub> ( $\mu\text{M}\cdot\text{h}^{-1}$ )
Chla	n = 28, r <sup>2</sup> = 0,3**	ns n = 25, r <sup>2</sup> = 0,05	n = 27, r <sup>2</sup> = 0,16*
TdR		ns n = 26, r <sup>2</sup> = 0,07	ns n = 26, r <sup>2</sup> = 0,02

Tableau 1 : Coefficients de corrélation et degrés de signification des relations entre l'incorporation de  $^3\text{H}$ -thymidine (TdR), abondance bactérienne, consommation d'O<sub>2</sub> et la chlorophylle *a* ou TdR. n : nombre de données. ns : non significatif. \* : p < 0,05 ; \*\* : p < 0,01. Toutes les variables ont été transformées en Log<sub>10</sub> pour homogénéiser les variances. a : consommation d'O<sub>2</sub> mesurée par l'approche continue.

### 3.2.2 Variations de l'efficacité de croissance bactérienne

#### *Influence du mode de calcul*

L'efficacité de croissance bactérienne a été calculée de deux façons : soit en fonction de PB ( $\mu\text{g C}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ), soit en fonction de PBB<sub>nette</sub> ( $\mu\text{g C}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ). Il peut paraître paradoxal d'utiliser la mesure de PB issue de l'activité initiale d'incorporation de TdR dans la mesure où nous avons montré que dans les flacons d'incubation, les processus différaient rapidement de leur valeur initiale durant l'incubation. Cependant, la respiration bactérienne est le plus fréquemment comparée à cet estimateur dans la littérature.

Les rendements mesurés en fonction de PBB<sub>nette</sub> sont effectivement toujours supérieurs à ceux mesurés en fonction de PB quelle que soit la radiale considérée (tableau 2). Ceci n'est pas surprenant dans la mesure où les ECB sont calculées dans des flacons s'éloignant rapidement des conditions initiales montrant des productions bactériennes bien supérieures. Ceci malgré le fait que ces différences pourraient être atténuées par l'utilisation de facteurs de conversion plus élevés ici que ceux généralement employés (voir ci-après).

	<i>Radiale Océanique</i> (du 18/03 au 21/03)	<i>Radiale Sainte Marie</i> (du 24/03 au 28/03)	<i>Radiale Grande Rade</i> (du 31/03 au 4/04)
1)	1,35 – 5,4%	0,5 – 21%	1,2 – 8,4%
2)	1,5 – 28,2%	5 – 42%	7,7 – 26,1%

Tableau 2 : Gamme de valeurs des efficacités de croissance bactérienne de toutes les stations échantillonnées, calculées en fonction de PB (1) et de PBB<sub>nette</sub> (2).

En résumé, dans la littérature où les estimations d'ECB sont généralement calculées en fonction de l'incorporation de thymidine ou de leucine ( $\mu\text{g C}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) pour des raisons pratiques (la microscopie est largement plus fastidieuse), les valeurs d'ECB sont fréquemment sous estimées. **Il nous semble donc préférable de calculer la production bactérienne nette**

**par la différence d'abondance bactérienne entre la fin et le début de l'incubation, intervalle de temps sur lequel est calculée la respiration.**

Qu'elle soit déterminée par la PB ou la PBB<sub>nette</sub>, le calcul de l'efficacité de croissance nécessite l'utilisation de plusieurs coefficients de conversion. Ces facteurs de conversion sont sujets à controverse. Le FC<sub>1</sub>, utilisé pour PB et mesuré par Jacquet (2001), se situe dans les valeurs élevées de la littérature. Celles-ci sont il est vrai très variables entre 0,1 et 60.10<sup>18</sup> cell.mol<sup>-1</sup> de TdR incorporée, 74% des valeurs (n = 97) se situant entre 1 et 4.10<sup>18</sup> cell.l<sup>-1</sup> (revue de Duklow et Carlson, 1992).

D'autre part, le facteur permettant la conversion de l'abondance cellulaire (cell.l<sup>-1</sup>) en µg C.l<sup>-1</sup> et utilisé pour PB et PBB<sub>nette</sub> varie selon les auteurs. La valeur de 20 fg C.cell<sup>-1</sup> proposée par Lee et Furhman (1987) et longtemps utilisée comme référence tend à être remplacée par celles proposées par Fukuda *et al.* (1998) : 12 fg C.cell<sup>-1</sup> en milieu océanique et 30 en milieu côtier mais serait plus faible dans les océans tropicaux avec des valeurs de 5,9 à 6,5 fg C cell<sup>-1</sup>. Ainsi, dans notre étude, l'incertitude d'un facteur 3 (20 *versus* 6 fg C cell<sup>-1</sup>) sur la biomasse bactérienne conduit à une incertitude d'un facteur 2 à 3 pour le calcul d'ECB. Si l'on assume que ces facteurs ne varient pas de manière considérable sur l'étendue des conditions trophiques rencontrées, cette incertitude ne fait que déplacer les valeurs d'efficacité de croissance sans affecter les tendances recherchées mais il convient de les garder à l'esprit lorsqu'on entend comparer différentes études.

*Comparaison avec les données issues de la littérature*

En milieu oligotrophe (inférieur à 1 µg Chla.l<sup>-1</sup>), l'efficacité de croissance bactérienne n'excède généralement pas 20% :

- mer des Sargasses : de 3,8 à 8,9% (Hansell *et al.*, 1995), de 7 à 19% (Carlson et Ducklow, 1996).
- nord ouest Méditerranée : les trois quart des valeurs mesurées par Lemée *et al.* (2002) sont de l'ordre de 18%.
- eaux côtières de Goa (Chla 0,85 µg.l<sup>-1</sup>), côte sud ouest de l'Inde : 11% (Pradeep Ram *et al.*, 2003).

Alors qu'en milieu eutrophe, les efficacités de croissance peuvent excéder les 40% :

- 60% dans les estuaires de Santa Rosa Sound (Coffin *et al.*, 1993),
- 55% dans les eaux du plateau continental de la Louisiane (Biddanda *et al.*, 1994).

Dans notre étude, les efficacités de croissance variaient en moyenne ( $\pm$  erreur standard) de  $13,5 \pm 2,3\%$  (1,5 à 28%) aux stations les plus oligotrophes ( $< 1 \mu\text{g Chla.l}^{-1}$ ) à  $21,7 \pm 3,9\%$  (7,4 à 42%) pour les stations les plus riches ( $> 1 \mu\text{g Chla.l}^{-1}$ ). Nos valeurs se situent bien dans la gamme observée dans la littérature que se soit en milieu oligotrophe ou en milieu plus riche.

#### *Variations d'ECB avec l'état trophique*

La Chla est une variable couramment utilisée pour décrire l'état trophique du milieu. Dans cette étude, l'efficacité de croissance bactérienne calculée en fonction de  $\text{PBB}_{\text{nette}}$  ou de PB ne présentait pas de relation significative avec la Chla (respectivement,  $n = 25$ ,  $r^2 = 0,08$  et  $n = 26$ ,  $r^2 = 0,05$ ). Daneri *et al.* (1994) ont montré également une absence de corrélation entre l'efficacité de croissance et la Chla dans la baie de Aarhus au Danemark. A l'inverse, Biddanda *et al.* (2001) ont trouvé une bonne relation entre l'efficacité de croissance et la Chla, mais ils ont montré que cette relation se vérifiait moins à de faibles concentrations de Chla (de 0 à  $10 \mu\text{g.l}^{-1}$ ), conditions trophiques qui se rapprochent de celles observées dans notre étude.

Toutefois, l'incorporation de TdR comme indicateur de l'état trophique semble *a priori* mieux adaptée pour retranscrire la richesse du milieu en terme de ressource pour l'activité bactérienne (Billen *et al.*, 1990). L'efficacité de croissance bactérienne calculée en fonction de  $\text{PBB}_{\text{nette}}$  présentait une relation significative avec l'incorporation de TdR (figure 13,  $n = 24$ ,  $r = 0,53^*$ ). **La richesse trophique estimée à partir de l'incorporation de TdR explique ainsi 53% de la variance de l'efficacité de croissance bactérienne.**

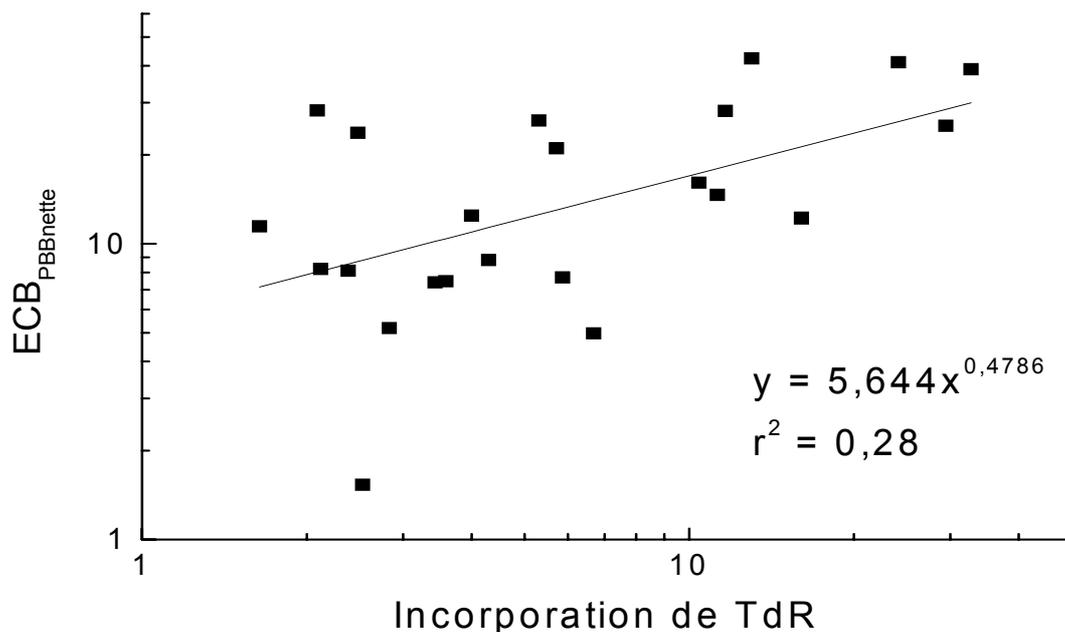


Figure 13 : Relation liant l'efficacité de croissance bactérienne estimée en fonction de la production de biomasse bactérienne nette. Toutes les variables ont été transformées en  $\text{Log}_{10}$  pour homogénéiser les variances.

Cette tendance est en accord avec la relation proposée par Del Giorgio et Cole (1998) à l'issue d'une méta-analyse portant sur une quarantaine d'études couvrant une large gamme de sites et de situations trophiques. Elle suggère donc que le rendement de croissance est bien conditionné par l'état trophique dans le lagon de Nouvelle-Calédonie, à l'image de ce que l'on observe à partir d'une large gamme de données issues de la littérature (Del Giorgio et Cole, 1998).

Observer ces tendances à une échelle locale est beaucoup plus rare (Biddanda *et al.*, 2001 ; cette étude). Très récemment, Pradeep Ram *et al.* (2003) ont montré également une corrélation positive entre ECB et la production bactérienne (en zone côtière du sud ouest de l'Inde,  $n = 8$ ,  $r = 0,65^*$  et en zone estuarienne,  $n = 12$ ,  $r = 0,93^{***}$ ) et attribuent les variations observées d'ECB à la production bactérienne plutôt qu'à l'activité respiratoire.

#### *Variations spatiales dans le lagon de Nouméa*

Le faible taux d'acquisition qui ne permettait d'échantillonner qu'une seule station par jour et les conditions climatiques extrêmement variables qui régnaient lors de la période d'échantillonnage, n'étaient pas favorables à l'étude rigoureuse des variations spatiales. Cependant il est possible de mettre en évidence des différences entre radiales (tableau 2). Les efficacités de croissance bactérienne de la radiale Océanique étaient en moyenne plus faibles

que celles observées aux deux autres radiales (10% pour la radiale Océanique contre 31 et 19,5% pour les radiales Sainte Marie et Grande Rade respectivement). Les efficacités de croissance bactérienne de la radiale Grande Rade étaient en moyenne plus faibles que celles mesurées pour la radiale Sainte Marie. Les productions bactériennes et la Chla suivaient la même tendance. Ces différences pour les deux dernières radiales, montrant généralement des degrés d'eutrophisation très proches, pourraient être dues au contexte météorologique très variable rencontré au cours de l'échantillonnage (cyclone le 14 mars). La radiale Grande Rade était celle échantillonnée le plus longtemps après le passage du cyclone (tableau 2). En outre, ces différences pourraient être en partie expliquées par une labilité différente de la matière organique entre les deux baies. En effet, Middelboe et Sondergaard (1993) ont mis en évidence une dépendance de l'efficacité de croissance des bactéries hétérotrophes vis-à-vis de la labilité du substrat organique disponible. La radiale Grande Rade, bien que située à proximité de Nouméa, reçoit aussi les déchets issus de l'usine pyrométallurgique de la Société Le Nickel (SLN). Il est probable que ces eaux sont moins enrichies en matière organique labile du fait de cette pollution industrielle que celle de Sainte Marie recevant essentiellement des effluents urbains.

#### *Variations temporelles*

Au cours de cette étude nous avons pu appréhender la variabilité temporelle à l'échelle hebdomadaire des processus étudiés pour une même station (N12) située en Baie de Sainte Marie. L'état trophique estimé à partir de la Chla ou de l'incorporation de TdR a varié respectivement d'un facteur 2 ou 4 sur une période d'un mois (figure 14). De même, l'efficacité de croissance variait fortement (figure 15). En 3 semaines, l'efficacité de croissance, calculée en fonction de  $PBB_{nette}$ , a diminué d'un facteur 8. L'efficacité de croissance suivait donc la même évolution que l'état trophique estimé à partir de l'incorporation de TdR. La station N12 fait l'objet d'un suivi saisonnier régulier par l'UR CAMELIA (pas de temps : hebdomadaire à bimensuel), les tendances observées pour l'incorporation de TdR et la Chla au cours de cette étude sont du même ordre de grandeur que celles décrites au cours du suivi saisonnier. Au cours de cette étude, nous avons pu mettre en évidence une relation entre l'incorporation de TdR et l'efficacité de croissance bactérienne, nous pouvons donc émettre l'hypothèse que l'efficacité de croissance bactérienne pourrait également suivre les variations temporelles importantes observées pour l'incorporation de TdR.

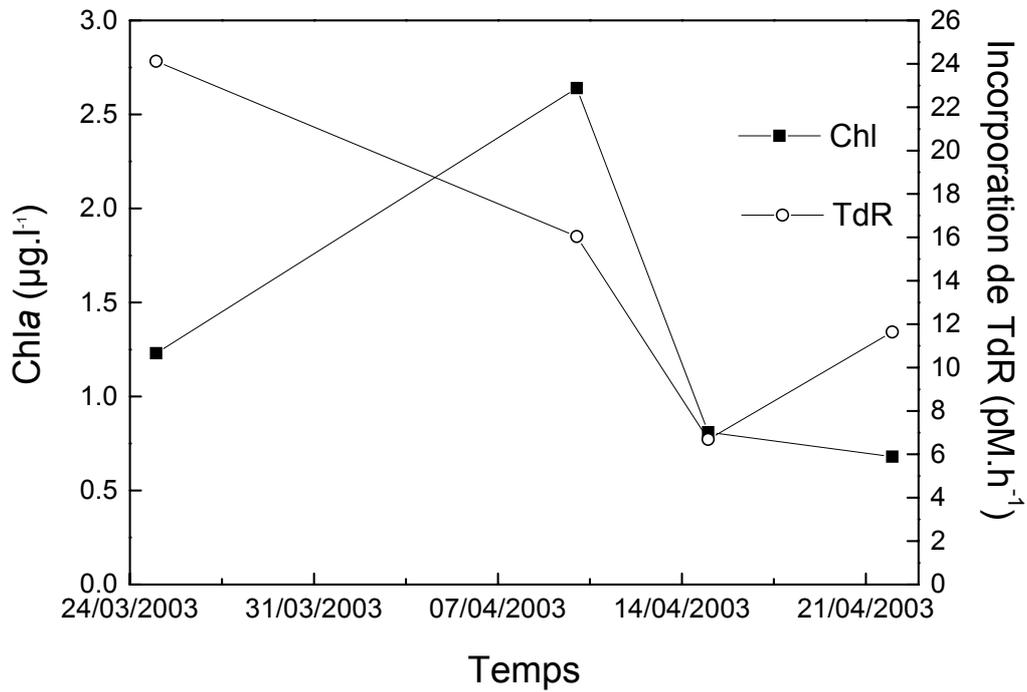


Figure 14 : Variabilité de l'état trophique en station N12 selon la Chla et l'incorporation de TdR à différentes dates.

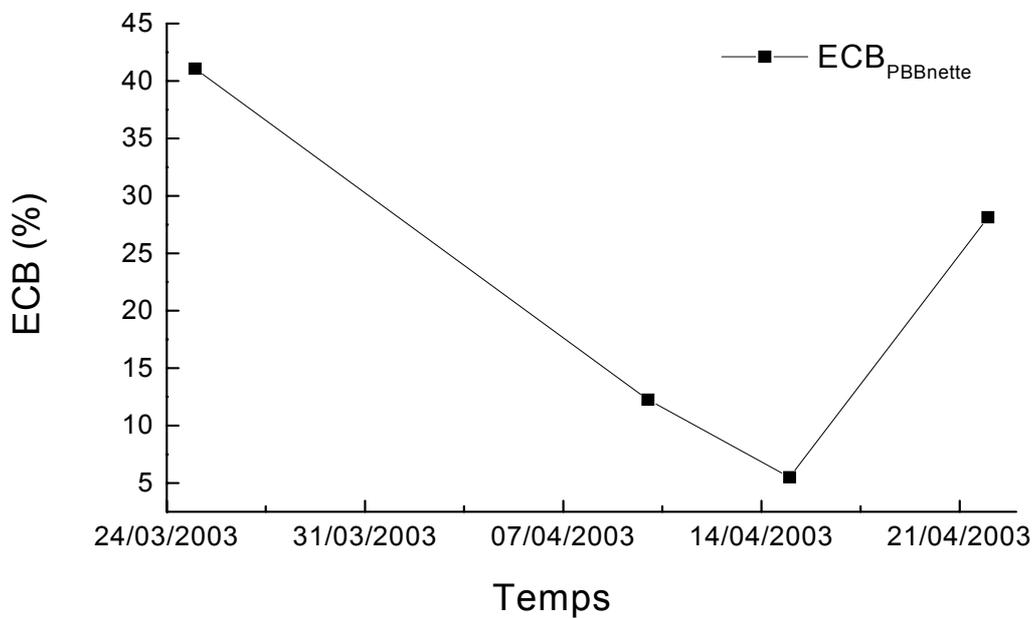


Figure 15 : Variabilité de l'efficacité de croissance bactérienne calculée en fonction de  $PBB_{nette}$  et de PB à différentes dates en station N12.

### 3.2.3 Conclusion

Malgré les limites engendrées par notre stratégie d'échantillonnage (faible taux d'acquisition de données) et les conditions climatiques extrêmement variables, nous avons bien une gamme de situations trophiques très contrastée.

Nos contraintes de mesure ne se prêtaient pas à une étude rigoureuse des variations spatiales et temporelles pendant le temps limité d'un stage. Il a toutefois été possible de montrer que les variations tant spatiales que temporelles étaient importantes et en accord avec l'incorporation de TdR utilisée comme descripteur de l'état trophique.

De nombreuses variables (quantité, qualité de la matière organique dégradable, disponibilité en éléments nutritifs) gouvernent l'efficacité de croissance qui varie alors spatialement et temporellement et il est impossible de les mesurer systématiquement *in situ*. L'approche consistant à corrélérer ECB et un indicateur de l'état trophique paraît alors la plus pertinente. En effet, nous avons pu mettre en évidence une relation entre l'état trophique du lagon (représenté selon l'incorporation de TdR) et l'efficacité de croissance bactérienne mesurée en fonction de  $PBB_{nette}$ .

Si des tendances peuvent être mises en évidence, l'interprétation précise des valeurs d'ECB, comme les comparaisons avec les valeurs publiées dans la littérature, reste délicate, le choix des facteurs de conversion influençant significativement les valeurs d'ECB obtenues.

## 4 Conclusion – Perspectives

Dans un système soumis aux influences terrigènes et anthropiques, tel que le lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie, l'UR CAMELIA tente d'analyser les conséquences engendrées par ces apports sur le fonctionnement d'un système naturellement oligotrophe. Plus précisément, une de leurs actions a pour but d'analyser les réponses des biocénoses planctoniques.

En effet, les bactéries hétérotrophes jouent deux fonctions majeures dans la transformation de la matière organique : elles produisent de la nouvelle biomasse bactérienne (production bactérienne) et elles respirent le carbone organique en carbone inorganique (respiration bactérienne). L'étude des activités bactériennes est donc incontournable pour la compréhension et la détermination des flux de matière organique. La connaissance de leur efficacité de croissance (quantité de nouvelle biomasse bactérienne produite par unité de substrat carboné assimilé) dans un milieu donné permet de construire des modèles biogéochimiques prédictifs. Cependant, ce rendement, dépendant de nombreux facteurs environnementaux qui varient à de courtes échelles de temps et d'espace, est susceptible de varier lui aussi de manière importante. La démarche choisie ici était de vérifier si l'hypothèse d'une augmentation de l'ECB avec l'état trophique du milieu pouvait s'appliquer au lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie.

Le premier objectif de cette étude était donc dans un premier temps de mettre en place un nouveau protocole de mesure de la respiration bactérienne en milieu planctonique.

L'utilisation de microsondes à oxygène, précises et sensibles, nous a permis de suivre l'évolution de la concentration d'oxygène en continu sur des temps d'incubation relativement courts, ce qui était jusqu'alors pratiquement impossible par les méthodes discrètes comme la méthode de Winkler, méthode la plus usuellement utilisée. Nous avons pu mettre en évidence que la respiration des stations les plus oligotrophes n'était mesurable qu'à partir du moment où l'abondance bactérienne et l'incorporation de thymidine augmentaient. Le confinement ou changement de communautés sont des conséquences inhérentes des longs temps d'incubation (> à 8 heures). En effet, les mesures de respiration microbienne, particulièrement dans des eaux oligotrophes, sont très faibles. Ces variations d'oxygène sont donc difficiles à estimer durant des courts temps d'incubation (quelques heures). Les méthodes actuelles (microsondes, Winkler) nécessitent encore des incubations longues et qui ne sont pas exemptes de conséquences. Il est donc nécessaire de développer des techniques plus sensibles dans le but

de diminuer les temps d'incubation. Ce qui permettrait d'avoir une communauté bactérienne à la fin de l'incubation peu différente de l'originale. Gattuso *et al.* (2002) voient en l'utilisation d'un spectromètre de masse piègeur d'ions (Cowie et Lloyd, 1999) une solution pour estimer les taux de respiration microbien. Cet outil mesure les gaz et composés volatils en solution. Il est surtout utilisé pour l'étude de la physiologie et des processus microbiens dans le sédiment mais pourrait s'appliquer en milieu pélagique.

Ce travail a également permis de montrer que corrélérer respiration dans les flacons d'incubation et production bactérienne initiale de l'échantillon, comme cela est généralement fait pour estimer l'ECB, peut conduire à des biais importants. Une meilleure approche serait donc de suivre en continu la consommation d'O<sub>2</sub> et d'arrêter l'incubation à partir du moment où cette consommation d'O<sub>2</sub> serait significative. Puis de rapporter cette consommation avec la production de biomasse nette, déterminée à partir de la différence d'abondance bactérienne entre le début et la fin de l'incubation. Ainsi, consommation et production de carbone seraient calculées sur le même intervalle de temps.

Notre second objectif était donc d'évaluer l'efficacité de croissance bactérienne dans des situations trophiques contrastées du lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie et en particulier de tester si celle-ci évoluait avec les conditions trophiques.

Les efficacités de croissance (ECB<sub>PBBnette</sub>) observées dans le lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie variaient en moyenne de  $13,5 \pm 2,3\%$  dans les eaux les plus oligotrophes ( $< 1 \mu\text{g Chl}a$ ) à  $21,7 \pm 3,9\%$  pour les stations les plus riches ( $> 1 \mu\text{g Chl}a.l^{-1}$ ). Nos données d'incorporation de TdR, comme indicateur de l'état trophique, nous ont permis de mettre en évidence une relation entre l'ECB (calculée en fonction de PBB<sub>nette</sub>) et un gradient d'eutrophisation lagonaire. Cette relation est encore peu précise mais pourrait aisément être étoffée par de nouvelles mesures. Le faible taux d'acquisition et les conditions climatiques très variables et peu propices à l'étude des variations spatio-temporelles, ont permis cependant de montrer d'importantes variations d'ECB à la fois dans l'espace et dans le temps. En effet, nous avons pu observer cette variabilité à la station N12 échantillonnée 4 fois en un mois (diminution d'ECB<sub>PBBnette</sub> d'un facteur 8 en 3 semaines). A l'avenir, le développement de cette relation pourrait être complétée en étudiant la variabilité temporelle d'ECB, tant à l'échelle annuelle, mensuelle, qu'hebdomadaire, en un nombre limité de stations. La prolongation de ce travail pourrait s'insérer ainsi dans l'appréhension de la variabilité temporelle à différentes échelles des processus qui gouvernent le fonctionnement du lagon sud ouest de Nouvelle-Calédonie.

## 5 Références bibliographiques

- Amon, R.M.W., Benner, R., 1996. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 41(1), 41-51.
- Biddanda, B., Opsahl, S., Benner, R., 1994. Plankton respiration and carbon flux through bacterioplankton on the Louisiana shelf. *Limnology and Oceanography* 39(6), 1259-1275.
- Biddanda, B., Ogdahl, M., Cotner, J., 2001. Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. *Limnology and Oceanography* 46(3), 730-739.
- Billen, G., Servais, P., Becquevort, S., 1990. Dynamics of bactérioplankton in oligotrophic and eutrophic aquatic environments : bottom-up or top-down control? *Hydrobiologia* 207, 37-42.
- Bjornsen, P.K., 1986. Bacterioplankton growth yield in continuous seawater cultures. *Marine Ecology Progress Series* 30, 191-196.
- Carlson, C.A., Ducklow, H.W., 1996. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 10, 69-85.
- Coffin, R.B., Connolly, J.P., Harris, P.S., 1993. Availability of dissolved organic carbon to bacterioplankton examined by oxygen utilization. *Marine Ecology Progress Series* 101, 9-22.
- Cowie, G., Lloyd, D., 1999. Membrane inlet ion trap mass spectrometry for the direct measurement of dissolved gases in ecological samples. *Journal of Microbiological Methods* 35, 1-12.
- Daneri, G., Riemann, B., Williams, P.J.leB., 1994. In situ bacterial production and growth yield measured by thymidine, leucine and fractionated dark oxygen uptake. *Journal of Plankton Research* 16(2), 105-113.
- Del Giorgio, P., Cole, J.J., 1998. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annual Review Ecological System* 29, 503-541.
- Déliat, G., 2001. La matière organique dissoute des zones côtières : sources, distribution et biodégradabilité. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI. 157-186.
- Douillet, P., 1998. Tidal dynamics of the south-west lagoon of New Caledonia: observations and 2D numerical modelling. *Oceanologica Acta*. 21, 69-79.
- Ducklow, H.W., Carlson, C.A., 1992. Oceanic bacterial production. *Advance Microbial Ecology* 12, 113-181.

- Faure, V., 2002. Modélisation biogéochimique du lagon de Nouméa. Influence de la boucle microbienne. Rapport de DEA Paris VI. 38 pp.
- Fukuda, R., Ogawa, H., Nagata, T., Koike, I., 1998. Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. *Applied and Environmental Microbiology* 3352-3358.
- Gattuso, J.P., Peduzzi, S., Pizay, M.D., Tonolla, M., 2002. Changes in freshwater bacterial community composition during measurements of microbial and community respiration. *Journal of Plankton Research* 24(2): 1197-1206.
- 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. *Marine Ecology Progress Series* 59, 263-270.
- Hansell, D.A., Bates, N.R., Gundersen, K., 1995. Mineralization of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea. *Marine Chemistry* 51, 201-212.
- Hobbie, J.E., Crawford, C.C., 1969. Respiration corrections for bacterial uptake of dissolved organic compounds in natural waters. *Limnology and Oceanography* 14, 528-532.
- Jacquet, S., 2001. Importance comparée des biomasses et productions bactérienne et primaire planctoniques et leurs relations avec les variables physico-chimiques dans le Lagon Sud-Ouest de Nouvelle-Calédonie. Rapport de DEA Paris VI. 33 pp.
- Jeffrey, S.W., Humphrey, G.F., 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c<sub>1</sub> and c<sub>2</sub> in algae, phytoplankton and higher plants. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 167, 191-194.
- Kirchman, D.L., Sigda, J., Kapuscinski, R., Mitchell, R., 1982. Statistical analysis of the direct count method for enumerating bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 44, 376-382.
- Kroer, N., 1993. Bacterial growth efficiency on natural dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 38(6), 1282-1290.
- Labrosse, P., Fichez, R., Farman, R., Adams, T., 2000. Seas at the millennium: An environmental evaluation. *Pergamon* 2, 723-736.
- Lee, S., Furhman, J.A., 1987. Relationship between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Applied and Environmental Microbiology* 53, 1298-1303.
- Lemée, R., Rochelle-Newall, E., Van Wambeke, F., Pizay, M.D., Rinaldi, P., Gattuso, J.P., 2002. Seasonal variation of bacterial production, respiration and growth efficiency in the open NW Mediterranean Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 29, 227-237.

- Lorenzen, C.J., 1966. A method for the continuous measurement of *in vivo* chlorophyll concentration. *Deep Sea Research* 13, 223-227.
- Massana, R., Pedros-Alio, C., Casamayor, E.O., Gasol, J.M., 2001. Changes in marine bacterioplankton phylogenetic composition during incubations designed to measure biogeochemically significant parameters. *Limnology and Oceanography* 46(5), 1181-1188.
- Middelboe, M., Nielsen, B., Sondergaard, M., 1992. Bacterial utilization of dissolved organic carbon (DOC) in coastal waters – determination of growth yield. *Archiv für Hydrobiologie Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 37, 51-61.
- Middelboe, M., Sondergaard, M., 1993. Bacterioplankton growth yield: seasonal variations and coupling to substrate lability and  $\beta$ -glucosidase activity. *Applied and Environmental Microbiology* 59(11), 3916-3921.
- Pomeroy, L.R., Sheldon, J.E., Sheldon, W.M., 1994. Changes in bacterial numbers and leucine assimilation during estimations of microbial respiratory rates in seawater by the precision Winkler method. *Applied Environmental Microbiology* 60(1), 328–332.
- Pomeroy, L.R., Sheldon, J.E., Sheldon, W.M., Peters, F., 1995. Limits to growth and respiration of bacterioplankton in the Gulf of Mexico. *Marine Ecology Progress Series* 117, 259-268.
- Porter, K.G., Feig, Y.S., 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography* 25, 943-948.
- Pradeep Ram, A.S., Nair, S., Chandramohan, D., 2003. Bacterial growth efficiency in the tropical estuarine and coastal waters of Goa, southwest coast of india. *Microbial Ecology* 45, 88-96.
- Revsbech, N.P., 1989. An oxygen microsensor with a guard cathode. *Limnology and Oceanography* 34, 472-476.
- Scherrer, B., 1984. *Biostatistique*. Edition Gaëtan Morin 850 pp.
- Sharp, J.H., Benner, R., Bennett, L., Carlson, C.A., Dow, R., Fitzwater, S.E., 1993. Re-evaluation of high temperature combustion and chemical oxidation measurements of dissolved organic carbon in seawater. *Limnology and Oceanography* 38(8), 1774-1782.
- Torréton, J.P., Dufour, P., 1996. Bacterioplankton production determined by DNA synthesis, protein synthesis and frequency of dividing cells in Tuamotu atoll lagoons and surrounding ocean. *Microbial Ecology* 32, 185-202.
- Yentsch, C.S., Menzel, D.W., 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and pheophytin by fluorescence. *Deep Sea Research* 10, 221-231.

Zweifel, U.L., Norrman, B., Hagström, A., 1993. Consumption of dissolved organic carbon by marine bacteria and demand for inorganic nutrients. *Marine Ecology Progress Series* 101, 23-32.

