

Thèse de Doctorat de L'Université de la Méditerranée

Présentée par

Claire Labry

Pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de la Méditerranée

Spécialité : Sciences de l'Environnement Marin

Dynamique du phosphore et rôle comme facteur limitant de la production planctonique dans le panache de la Gironde sur le plateau continental Sud Gascogne

Soutenu le 19 octobre 2001

Devant le jury composé de :

C. Lancelot (DR, ESA, Université de Bruxelles)	Rapporteur
P. Le Corre (Pr., LCM, Université de Bretagne Occidentale)	Rapporteur
B. Coste (Pr., LOB, COM, Université de la Méditerranée)	Président
B. Quéguiner (Pr., LOB, COM, Université de la Méditerranée)	Examineur
F. Van Wambeke (CR, LMM, COM, Université de la Méditerranée)	Examinatrice
T. Moutin (Me. Conf., LOB, COM, Université de la Méditerranée)	Examineur
A. Herbland (DR, Ifremer, CREMA L'Houmeau)	Directeur de Thèse

Remerciements

Je tiens à remercier en tout premier lieu Bernard Coste qui est à l'origine de ma venue au CREMA L'Houmeau et dont la disponibilité (malgré un emploi du temps très chargé !) à un moment très précis de mon DEA a été déterminante pour moi pour la suite. A cette même période, Frédéric Diaz m'a fait profiter de ses connaissances océanographiques acquises en maîtrise et je l'en remercie.

Tout particulièrement, je remercie chaleureusement Alain Herbland qui m'a fait confiance dès 1997 puis tout au long de ma thèse. Il m'a fourni, en permanence et sans hésitation aucune, les moyens matériels et scientifiques de mener à bien ce travail. J'apprécie grandement ses qualités d'écoute et d'ouverture aux idées des autres. Grâce à Alain l'heuristique et la maïeutique ne me sont plus inconnues ! Je serai aussi toujours reconnaissante envers Daniel Delmas sans qui cette thèse ne serait pas ce qu'elle est. Je me souviendrai toujours de ses cours passionnants sur tableau veleda dans l'intimité de son bureau ! Il sait très bien faire partager son goût pour la matière organique dissoute, les activités enzymatiques, et également pour son foie gras (!).

Je remercie Thierry Moutin et Patrick Rimbault pour avoir accepté respectivement la codirection de cette thèse et d'être mon parrain ainsi que Pierre, Christiane, Bernard et France pour avoir accepté d'évaluer le travail accompli au cours de cette thèse.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers Maurice Héral et Patrick Gentien, les directeurs successifs du CREMA L'Houmeau pour m'avoir accueillie dans ce laboratoire.

Je remercie Jean Michel Brylinski et Richard Santer pour m'avoir accueillie à la Maison de la Recherche en Environnement Naturel (MREN) et au sein du Laboratoire Interdisciplinaire en Sciences de l'Environnement (LISE) de Wimereux et pour m'avoir mis à disposition, sans délai aucun, les moyens informatiques nécessaires à la rédaction de la thèse durant cette dernière année.

Je remercie aussi chaleureusement les collaborateurs du PNOC et du PNDR pour nos échanges scientifiques très intéressants et pour leur sympathie (ils se reconnaîtront).

Merci à tout le personnel du CREMA qui m'a aidé et ceci toujours dans des délais les plus courts...

Merci aux équipages des bateaux de recherche, toujours sympathiques et prévenants.

Merci à Delphine et Isabelle pour leur soutien et leur compréhension, elles qui m'ont hébergée cette dernière année et qui ont compris mes longues absences.

Merci à Vincent, Eric, Christophe, Felipe et à tous ceux qui m'ont accueillie chaleureusement à la MREN et à la station marine de Wimereux.

Merci à Dorothée pour ce dernier coup de main et pour sa bonne humeur omniprésente.

A mes parents,
A mon frère et sa petite famille,
A François,
Amoureusement.

Table des matières

Introduction	1
Les zones côtières soumises à d'importants apports d'eau douce	2
Le calendrier de la production primaire.....	2
Importance de la production phytoplanctonique et nature des communautés algales dominantes : rôle des sels nutritifs.....	3
Le Golfe de Gascogne : une région marine aux écosystèmes côtiers contrastés et exploités	4
Le rôle du phosphore sur la productivité des écosystèmes marins	7
Revisiter le statut du phosphore.....	7
Le rôle du POD : mesure de l'activité des phosphatases alcalines.....	9
Caractéristiques biochimiques des phosphatases alcalines.....	10
Phosphatases alcalines et spécificité des substrats.....	11
Phosphatases alcalines et teneurs en phosphates du milieu.....	11
Phosphatases alcalines liées aux algues mais aussi aux bactéries.....	12
Objectifs de recherche et présentation du manuscrit	13
Le cadre programmatique de l'étude.....	15
1. Matériels et Méthodes	17
1.1. Stratégie d'échantillonnage	17
1.2. Mesures hydrologiques	21
1.3. Prélèvements	22
1.4. Les stocks	22
1.4.1. Les différentes formes du phosphore.....	22
1.4.1.1. Phosphate.....	22
1.4.1.2. Phosphore organique dissous.....	25
1.4.1.3. Phosphore organique particulaire.....	27
1.4.1.4. Monoesters de phosphate.....	27
1.4.2. Nitrate, nitrite, ammonium et silicate.....	29
1.4.3. Carbone et azote organique particulaire.....	29
1.4.4. Biomasse phytoplanctonique.....	29
1.4.5. Espèces phytoplanctoniques.....	31
1.4.6. Biomasse bactérienne.....	31
1.5. Les flux	32
1.5.1. Assimilation du phosphate et régénération du phosphore.....	32
1.5.1.1. Assimilation du phosphate.....	32
1.5.1.2. Paramètres cinétiques de l'assimilation du phosphate.....	35
1.5.1.3. Régénération du phosphore.....	36
1.5.2. Activités des phosphatases alcalines.....	37
1.5.3. Production primaire.....	41
1.5.4. Paramètres photosynthétiques.....	42
1.5.5. Production bactérienne.....	43

1.6. Expériences d'enrichissement	43
1.7. Séparation des populations algales et bactériennes	45
1.8. Rendons à César	46

2. Déterminisme et récurrence des blooms hivernaux dans le panache de la Gironde..... 49

2.1. Blooms phytoplanctoniques hivernaux en 1998	49
2.1.1. Objectifs.....	49
2.1.2. Résultats.....	49
2.1.2.1. Caractéristiques hydrologiques.....	49
2.1.2.2. Nutriments.....	53
2.1.2.3. Chlorophylle <i>a</i> , production primaire et espèces phytoplanctoniques.....	55
2.1.2.4. Matière organique particulaire.....	59
2.1.3. Discussion.....	60
2.1.3.1. Mise en évidence des blooms hivernaux.....	60
2.1.3.2. Déterminisme des blooms hivernaux.....	62
2.2. Blooms phytoplanctoniques hivernaux en 1999	71
2.2.1. Objectifs.....	71
2.2.2. Résultats.....	71
2.3. Conclusion	74

3. Dynamique saisonnière des populations algales, mise en évidence de leur limitation par le phosphore et conséquences.....75

3.1. Objectifs	75
3.2. Résultats	75
3.2.1. Caractéristiques hydrologiques.....	75
3.2.2. Nutriments.....	78
3.2.3. Chlorophylle <i>a</i> , production primaire et espèces phytoplanctoniques.....	81
3.2.4. Biomasse et production bactérienne.....	83
3.2.5. Matière organique particulaire.....	85
3.2.6. Temps de turnover du phosphate et paramètres cinétiques de l'assimilation.....	86
3.2.7. Activités des phosphatases alcalines liées aux particules.....	90
3.2.8. Expériences d'enrichissement.....	90
3.2.8.1. Réponses algales.....	90
3.2.8.2. Réponses bactériennes.....	92
3.3. Discussion	94
3.3.1. Dynamique des populations phytoplanctoniques.....	94
3.3.2. Mise en évidence et évolution de la limitation de la croissance algale par le phosphore... 96	
3.3.2.1. Les eaux « girondines ».....	96
3.3.2.2. Les eaux « océaniques ».....	101
3.3.3. Le rôle des apports girondins en sels nutritifs au plateau continental Sud Gascogne sur l'évolution saisonnière des éléments limitants la croissance algale.....	101
3.3.4. Conséquences de la limitation par le phosphore sur la structure de taille des communautés microplanctoniques.....	105
3.3.4.1. Structure de taille du phytoplancton.....	105

3.3.4.2. Conséquences de la compétition phytoplancton-bactéries pour le phosphate.....	107
3.3.4.3. Structure de taille du réseau trophique planctonique.....	109
3.4. Conclusion.....	110
4. Dynamique du phosphore.....	113
4.1. Objectifs.....	113
4.2. Résultats.....	113
4.2.1. Les différentes formes de phosphore.....	113
4.2.2. APA totale et fractionnée.....	117
4.2.3. Paramètres cinétiques de l'APA et temps de turnover des monoesters de phosphate.....	119
4.2.4. Expériences d'enrichissement en phosphate.....	120
4.2.5. Régénération du phosphore.....	122
4.3. Discussion.....	124
4.3.1. Evolution saisonnière des différentes formes de phosphore et de l'APA totale.....	124
4.3.2. Contributions du phytoplancton, des bactéries et du dissous à l'APA.....	129
4.3.3. Régulation <i>in situ</i> et <i>in vitro</i> de l'APA.....	131
4.3.4. Origine du POD dans la colonne d'eau.....	136
4.3.5. Le POD satisfait-il les besoins en phosphore des microorganismes et dans quelle mesure ?.....	137
4.4. Conclusion.....	139
Conclusions et Perspectives.....	143
Bibliographie.....	147
Annexes.....	163

Liste des principales abréviations

S : salinité

z_m : profondeur de la couche de mélange

K : coefficient d'atténuation verticale de la lumière

PO_4 : phosphate

NO_3 : nitrate

NH_4 : ammonium

N_{min} : azote minéral

POD : phosphore organique dissous

NOD : azote organique dissous

PDT : phosphore dissous total

POP : phosphore organique particulaire

NOP : azote organique particulaire

COP : carbone organique particulaire

MOP : matière organique particulaire

PT : phosphore total

chl *a* : chlorophylle *a*

Bact : bactéries

PP : production primaire

PB : production bactérienne

APA : activité des phosphatases alcalines

MUF-P : méthylumbelliféryl phosphate

K_m : constante de Michaelis

V_m : activité maximale

T_n : temps de turnover des phosphates

Introduction

L'océan côtier est une zone complexe où des processus physiques, chimiques, biologiques et géologiques sont fortement influencés par les frontières avec le continent, le sédiment, l'atmosphère et les interactions avec la mer ouverte. Pour cette raison, le terme « océan côtier » recouvre une grande variété de régions océaniques aux caractéristiques très différentes.

Devant une telle diversité, une classification a été proposée (encadré). Elle est basée sur la dominance d'un facteur physique responsable du transport de l'énergie, des nutriments ou des particules inertes (Brink et al. 1992 repris par Henrichs et al. 2000, rapport CoOP n°7). Comme toutes les classifications elle est imparfaite car les différents forçages sont présents partout à des degrés divers, mais elle présente l'avantage de pouvoir étudier de manière relativement isolée les effets d'une variable forçante dominante, comme le vent, la marée, ou les apports d'eau douce. Les eaux du Golfe de Gascogne sous influence des apports de la Gironde se rattachent à la catégorie n°3 de la classification.

Classification des écosystèmes marins côtiers en fonction du forçage dominant, extrait de Coastal Ocean Processes (CoOP) Report n°7 (Henrichs et al. 2000) :

1. Wind-driven shelf regions : currents and current variability are primarily caused by winds, either local or remote, on time scales longer than one day. Seasonal upwelling is found over many of these shelves, including those off Washington and Oregon, Portugal, Southwest Africa, and western South America.
2. Tidally driven shelf regions : over these shelves, strong tides can determine mixing processes and mean flows. Examples include Georges Bank and the Bering Sea.
3. Buoyancy-driven shelf regions : freshwater discharge from rivers creates an alongshore flow. In areas where the freshwater influx is large, such as the coastal Gulf of Alaska or the northeastern Gulf of Mexico, the effects can dominate the entire shelf.
4. Western boundary current shelves : transport over these shelves is influenced by strong offshore ocean currents, such as the Kuroshio or the Gulf Stream, and by eddies that originate from these currents. The Atlantic coast of U.S. is a prime example.
5. Ice-covered shelves : the great Lakes and the Bering, Chukchi, and Beaufort Sea coasts of Alaska are seasonally ice-covered. Ice strongly affects air-sea exchange of heat and momentum. Sea ice formation results in formation of dense water masses with elevated salinities due to brine rejection.

Les zones côtières soumises à d'importants apports d'eau douce

Situés à l'interface continent-océan, les **panaches fluviaux** imposent aux écosystèmes marins côtiers des contraintes physiques et chimiques de grande amplitude et de forte variabilité temporelle. Ces contraintes, qui se superposent à celles du milieu océanique environnant, peuvent perturber **le calendrier de la production primaire** d'une part, **son importance et la nature des communautés algales dominantes** d'autre part. Ces dernières sont en effet induites par l'importance des apports fluviaux en sels nutritifs et par les équilibres/déséquilibres entre les nutriments dans ces apports.

Le calendrier de la production primaire

Le calendrier de la production primaire des eaux océaniques tempérées de l'Atlantique Nord Est est classiquement caractérisé par quatre saisons écologiques majeures (Longhurst 1998) :

- (1) Une saison hivernale où les conditions de fort mélange vertical et de faible lumière limitent la croissance algale,
- (2) Une saison printanière, caractérisée par un important bloom phytoplanctonique limité par un sel nutritif,
- (3) Une saison estivale avec des eaux stratifiées épuisés en sels nutritifs en surface imposant des maximums profonds de chlorophylle,
- (4) Une saison automnale, au cours de laquelle des blooms secondaires peuvent apparaître après que les premières tempêtes aient détruit la stratification estivale.

En terme de productivité annuelle, l'évènement majeur de ce calendrier est l'occurrence d'un bloom phytoplanctonique printanier, déclenché par l'établissement d'une **stratification thermique** des masses d'eau au **printemps**, résultant d'une augmentation conjointe de l'ensoleillement, de la température de l'air puis de l'eau à cette période. Les communautés algales se trouvent ainsi piégées dans une couche d'eau peu profonde, relativement stable et enrichie en nutriments par l'approfondissement hivernal de la couche de mélange qui avait permis une redistribution du stock profond de sels nutritifs sur toute la colonne d'eau. Les cellules phytoplanctoniques reçoivent alors une quantité de lumière suffisante pour se développer et constituer le bloom printanier, leur photosynthèse brute intégrée sur 24 h et sur toute la profondeur de la couche de mélange étant supérieure aux taux de pertes de la

biomasse algale. C'est le concept classique de « profondeur critique » de Sverdrup (1953), profondeur correspondant à l'annulation des termes de production et de pertes.

Sur le plan physique, les écosystèmes soumis à d'importants apports d'eau douce sont caractérisés par une couche d'eau dessalée glissant sur une eau océanique plus dense, qui, en période de calme, permet l'établissement d'une **stratification haline** des masses d'eau. Cette stratification, qui peut être temporellement découplée de la stratification thermique printanière, pourrait être à l'origine d'efflorescences algales plus précoces dans l'année, en **hiver**, si des conditions anticycloniques venaient à s'installer sur une durée compatible avec le temps nécessaire à l'établissement d'un bloom phytoplanctonique (typiquement de l'ordre d'une semaine). Cela a été montré en eaux côtières dans les fjords norvégiens (Erga & Heimdal 1984), le sud de l'Islande (Thórdardóttir 1986), en eaux estuariennes et côtières de l'est (Pennock 1985, Pennock & Sharp 1994) et de l'ouest des Etats Unis (Cloern 1984) et de l'ouest du Canada (Yin et al. 1996) mais également en baie de Brest (Ragueneau et al. 1996) et dans le Golfe de Gascogne, sur le plateau continental armoricain dans les zones de fronts halins de Bretagne Ouest et dans les eaux dessalées du secteur Sud Bretagne (Morin et al. 1991).

Importance de la production phytoplanctonique et nature des communautés algales dominantes : rôle des sels nutritifs

Si les substances minérales terrigènes des fleuves sont connues pour être une source d'enrichissement des eaux côtières en éléments clés pour la croissance phytoplanctonique comme l'azote (N) et le phosphore (P), la tendance générale à l'augmentation des concentrations de ces nutriments dans les eaux estuariennes durant les deux ou trois dernières décennies est désormais un fait avéré (Conley 2000, Cloern 2001). Cette augmentation a des conséquences sur l'**importance de la biomasse et de la production phytoplanctonique** dans les écosystèmes côtiers, à l'exception des estuaires très turbides où la lumière limite en permanence la production primaire (Cloern 1999, 2001). *In fine* c'est la richesse globale des écosystèmes qui peut être affectée et cela peut conduire à des problèmes d'eutrophisation sévère. En plus des concentrations croissantes en nutriments dans les eaux estuariennes, des perturbations dans les équilibres entre les divers éléments nutritifs apparaissent : ainsi on constate dans les eaux estuariennes des deux principaux fleuves de la façade atlantique française, la Loire et la Gironde, une tendance à un déséquilibre des rapports N:P au « profit »

de l'azote (RNO 1992-1993). De même, dans certains estuaires soumis à d'importants apports azotés (et phosphorés) comme la Mer d'Irlande, la Rivière Mississippi et la Rade de Brest, les rapports Si:N ont tendance à diminuer sur les trente dernières années et à passer en dessous de la valeur seuil de 1 considérée comme la valeur au dessous de laquelle les diatomées ne sont plus compétitives et laissent la place à des groupes qui n'ont pas besoin de silice comme les phytoflagellés et les dinoflagellés (Redfield et al. 1963, Levasseur & Therriault 1987, Radach et al. 1990, Dortch & Whitley 1992).

Il s'ensuit que ces augmentations en sels nutritifs et ces perturbations de leurs équilibres ne se traduisent pas seulement par un changement de l'élément limitant la production primaire totale des eaux influencées par l'apport d'eau douce mais aussi par des modifications de la **composition des communautés phytoplanctoniques** : il est par exemple tentant de rapprocher ces évolutions de celle de l'augmentation de la fréquence des blooms d'algues nocives ou toxiques au cours des dernières décennies (GEOHAB 2001). Même si la preuve d'une relation causale entre les deux phénomènes n'est pas toujours rigoureusement établie, cette hypothèse fait partie aujourd'hui du modèle conceptuel et les faits qui la supportent augmentent (Montresor & Smetacek 2001).

Enfin, bien que ce domaine soit beaucoup moins documenté que celui des algues toxiques, les changements de composition spécifique du phytoplancton peuvent avoir un impact direct sur la dynamique des populations des métazoaires (zooplancton, ichtyoplancton et zoobenthos) qui utilisent le phytoplancton comme source de nourriture primaire (Cloern 2001).

Le Golfe de Gascogne : une région marine aux écosystèmes côtiers contrastés ...

Avec environ 1000 km de côtes, le Golfe de Gascogne est une grande baie ouverte sur l'océan atlantique dotée d'un large plateau continental au nord, qui va s'amenuisant dans la partie sud. Il est caractérisé par une forte influence des conditions climatiques, il est soumis à des variations saisonnières de grande amplitude et il fait l'objet d'importants impacts d'origine anthropique, notamment en relation avec les activités humaines qui se sont développées dans les bassins versants des fleuves qui y débouchent.

Catchment areas and run-off from the main rivers.

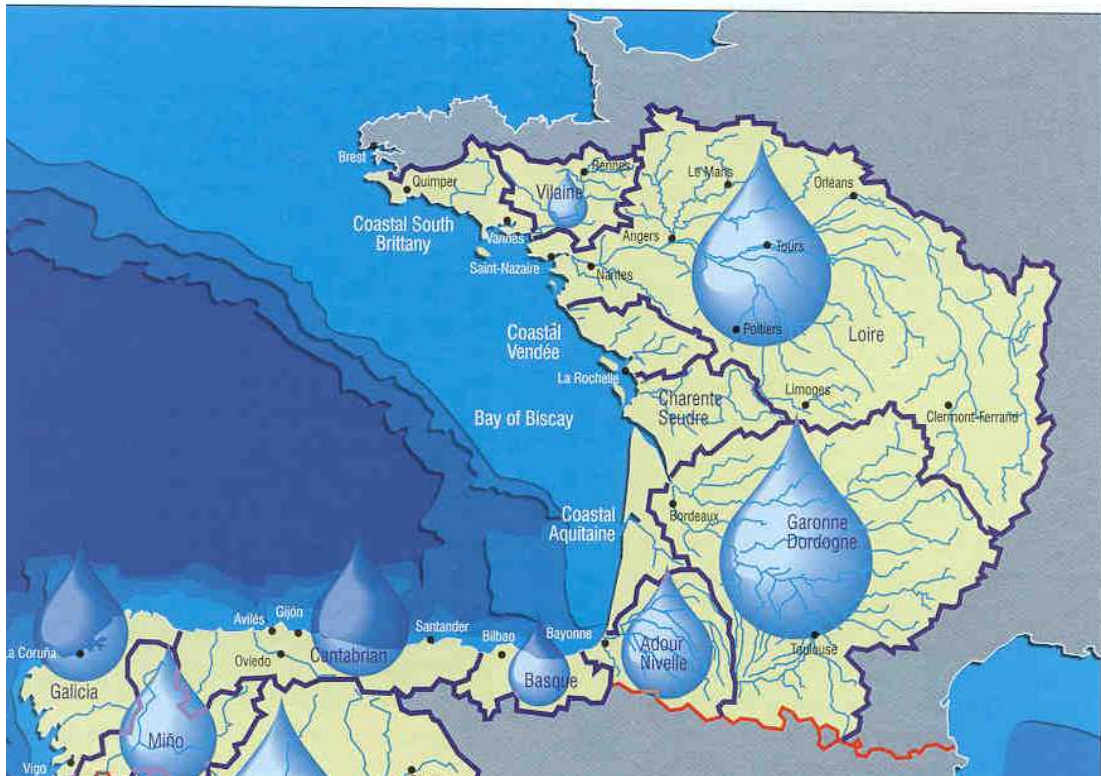


Fig. 1. Bassins versants et importances relatives des principaux fleuves français et espagnols du Golfe de Gascogne (OSPAR Commission 2000)

Mais selon que l'on observe depuis la côte française ou depuis la côte espagnole, il présentera une image très différente. En effet, chacune des deux « façades terrestres » du Golfe de Gascogne possède des **caractéristiques très tranchées** (Fig. 1) : côté France, ce sont de grands fleuves chargés de nutriments et de particules qui s'y déversent : la Gironde et la Loire pour les plus importants avec des débits moyens annuels de $900 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ et des maxima pouvant atteindre $5000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Lazure & Jegou 1998), mais aussi l'Adour, la Charente et la Vilaine. Côté Espagne ce sont au contraire de petits fleuves côtiers (16 pour la seule côte Cantabrique) qui, au total, amènent peu d'eau douce et de nutriments. Comparée à celle des fleuves français, la contribution des fleuves espagnols aux apports en sels nutritifs par exemple est faible et très dispersée (Prego & Vergara 1998).

Cela se traduit, côté France, par des panaches fluviaux de grande extension qui peuvent se rejoindre, et ainsi recouvrir une bonne partie du plateau continental, particulièrement en période hiverno-printanière (Lazure & Jegou 1998), alors que, du côté espagnol, la fertilisation par les eaux continentales est négligeable en dehors des embouchures (Prego & Vergara 1998).

Il s'en suit que la côte espagnole est caractérisée par des blooms phytoplanctoniques printaniers « typiques » des eaux tempérées (Longhurst 1998), c'est à dire constitués essentiellement de diatomées (Fernandez & Bode 1994, Varela 1996, OSPAR Commission 2000). Comparativement, la production planctonique des panaches fluviaux de la façade atlantique française a fait l'objet de peu d'études (Morin et al. 1991, Delmas et al. 1992, Artigas 1997, 1998, Herbland et al. 1998), ce qui fait qu'elle est globalement assez mal connue.

...et exploités

La pêche représente une activité économique de premier ordre dans le Golfe de Gascogne. En 1997 et en 1998, les captures ont dépassé 100 000 tonnes pour une valeur de 1,7-1,8 milliards de francs. Si, comme le souligne Biseau (1998), l'activité halieutique dans le Golfe de Gascogne est mal connue dans le détail, l'état des stocks des principales espèces commerciales peut être approché au travers du suivi des captures, des efforts de pêche, des études de dynamique de populations réalisées à partir des débarquements et des échantillonnages biologiques dans les criées et lors des campagnes expérimentales.

En revanche, il est encore impossible d'appréhender le rôle des fluctuations de l'environnement physique et biologique sur la variabilité de ces populations exploitées car le niveau de connaissance que l'on possède sur ces environnements demeure très insuffisant (PNEC Chantier Golfe de Gascogne 2000). Or, nous l'avons vu, les zones côtières avec de forts apports d'eau douce sont parmi celles qui sont le plus affectées par les activités humaines. Et si des modifications importantes et durables se produisent en terme de quantité et de qualité des nutriments apportés, il faut comprendre comment ces apports vont modifier la nature et la production des réseaux trophiques planctoniques (phytoplancton, bactéries, zooplancton) car ces changements peuvent avoir des conséquences majeures sur la dynamique des échelons supérieurs du réseau trophique exploités (les poissons en particulier).

Les états riverains sont aujourd'hui responsables de l'environnement et les conventions internationales stipulent de mettre en œuvre des mesures de surveillance et de préservation et d'acquiescer des preuves scientifiques du bien fondé de ces mesures. Pour ce qui concerne le Golfe de Gascogne, c'est la convention pour la protection de l'environnement marin de l'Atlantique Nord Est (OSPAR convention 1992) qui s'applique et exige que les parties contractantes « fassent tout leur possible pour prévenir et éliminer la pollution, prennent les mesures nécessaires pour protéger le milieu marin des effets adverses des activités humaines, pour sauvegarder la santé humaine et pour protéger les écosystèmes marins et, quand c'est possible, restaurer les zones marines qui ont été affectées ». Le premier « Quality Status Report » de la Commission OSPAR concernant la Région IV, c'est à dire le Golfe de Gascogne et la Côte Ibérique vient de paraître tout récemment (novembre 2000). Un des principaux constats de ce premier bilan est que si la qualité des eaux est « généralement bonne », le manque de données comparables, compatibles et vérifiables a été l'un des obstacles majeurs à une bonne évaluation de la qualité environnementale dans la Région IV. D'où l'importance d'étudier les processus qui auront une influence sur la nature et la productivité des réseaux trophiques planctoniques de ces zones sensibles et perturbées par l'activité anthropique croissante.

Le rôle du phosphore sur la productivité des écosystèmes marins

Revisiter le statut du phosphore

Les écosystèmes marins et d'eau douce présentent des différences dans leurs teneurs en nutriments qui conduisent à des différences dans l'importance relative de l'azote ou du phosphore comme éléments limitants de la production primaire. Le phosphore est généralement considéré comme le premier élément limitant dans les eaux douces (Schindler 1977) alors que c'est classiquement l'azote dans les systèmes marins (Ryther & Dunstan 1971, Oviatt et al. 1995). Même si quelques exceptions existent (Elser et al. 1990, Jansson et al. 1996, Blomqvist 1997, Vrede et al. 1999), la limitation par le P en eaux douces a été rigoureusement démontrée de la culture d'algue monospécifique au lac entier (Hecky & Kilham 1988). Les résultats d'Hudson et al. (2000) qui ont revisité les concentrations de phosphate de 56 lacs de l'Amérique du Nord par une méthode de mesure indirecte et qui ont trouvé des teneurs de deux à trois ordres de grandeur en dessous des valeurs obtenues par les

méthodes classiques (0,027 à 16,8 nM), le confirment. En milieu océanique en revanche, ce « dogme » apparaît comme une simplification excessive et la limitation de la production algale par P plutôt que par N est source de débats (Smith 1984, Tyrrell 1999).

Ainsi en milieu océanique, loin de tout apport fluvial, le phosphore est récemment considéré comme l'élément limitant la production des communautés planctoniques : dans les eaux oligotrophes de l'ouest (Vaulot et al. 1996, Thingstad et al. 1998, Moutin sous presse) et ultra-oligotrophes de l'est de la Méditerranée (Krom et al. 1991, Zohary & Robarts 1998), dans le gyre subtropical du Pacifique Nord (Karl et al. 1995, Björkman et al. 2000) et en mer de Sargasses (Cotner et al. 1997, Rivkin & Anderson 1997, Wu et al. 2000). La tendance des rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ de l'océan global à être légèrement inférieurs au rapport de Redfield (Tyrrell & Law 1997, 1998, Tyrrell 1999, Karl et al. 2001) et le fait qu'il reste un « résidu » de phosphate quand les concentrations de nitrates s'annulent a longtemps fait penser que l'azote est l'élément limitant le plus important. Aujourd'hui cette interprétation est contrebalancée tout d'abord par la prise en compte des teneurs en N et en P dissous total (NDT, PDT), l'azote et le phosphore organique dissous (NOD, POD) étant des substrats potentiels pour les microorganismes. En effet, la régression des teneurs en NDT versus celles du PDT montre un « résidu » d'azote plutôt qu'un « résidu » de phosphore (Jackson & Williams 1985, Karl et al. 2001). Par ailleurs, à long terme, l'azote ne serait pas limitant pour les communautés planctoniques fixatrices de diazote, capables d'exploiter une source inépuisable d'azote (N_2 atmosphérique) grâce à l'activité de nitrogénases et dont la contribution à la production primaire nouvelle océanique, sous-estimée jusqu'alors, pourrait atteindre 50 % (Karl et al. 1997, Karl 2000a). Ces considérations permettent de revisiter le statut du phosphore (qui lui, ne possède pas de réservoir atmosphérique) et de le considérer comme « l'élément limitant ultime » de la production océanique à l'échelle planétaire (Toggweiler 1999, Tyrrell 1999) car seuls les apports externes en phosphate (essentiellement par les rivières) contrôleraient la production primaire à long terme (Tyrrell 1999). Ce concept ne fait pas encore l'unanimité car il ne tient pas compte du rôle du fer comme facteur contrôlant l'activité des nitrogénases (Falkowski 1997, Cullen 1999, Toggweiler 1999). Toutefois, si les résultats d'Hudson et al. (2000) s'étendaient également au milieu océanique, le phosphore serait l'élément nutritif le plus essentiel à l'échelle planétaire (Karl 2000b).

C'est dans les eaux côtières et estuariennes que la limitation par le phosphore a été la plus fréquemment citée au cours de ces deux dernières décennies, et notamment dans certains fjords (Mykkestad & Sakshaug 1983, Paasche & Erga 1988, Lignell et al. 1992, Thingstad et al. 1993) et dans de nombreuses eaux estuariennes ou de panache (Harrison et al. 1990, Ammerman 1992, Fisher et al. 1992, Pennock & Sharp 1994, Holmboe et al. 1999, Yin et al. 2000, Diaz et al. 2001). Dans ces eaux caractérisées par des variations saisonnières du mélange eaux douces-eaux de mer (Fisher et al. 1992, Conley 2000), le facteur limitant varie de façon saisonnière et spatiale (D'Elia et al. 1986, Rudek et al. 1991). La limitation par P intervient généralement en période de crue associée à des apports nutritifs fluviaux déséquilibrés en phosphate par rapport aux nutriments azotés (Ammerman 1992, Fisher et al. 1992) alors qu'une limitation par N ou N+P est plutôt associée à de faibles débits avec une plus grande influence des eaux océaniques ayant des rapports N:P plus équilibrés (Fisher et al. 1992).

Le rôle du POD : mesure de l'activité des phosphatases alcalines

Si le phosphate est le substrat préféré des microorganismes comme cela a été montré en milieu dulcicole (Berman 1988, Cotner & Wetzel 1992) et en milieu côtier (Björkman & Karl 1994), le POD peut constituer une source potentielle de phosphore pour ces microorganismes en condition de déficience en phosphate (Taft et al. 1977, Cembella et al. 1984a, Bentzen & Taylor 1991, Björkman & Karl 1994). Compte tenu de son importance dans notre étude, nous allons maintenant détailler cet aspect de la dynamique du phosphore.

La capacité des microorganismes à utiliser le POD nécessite l'action d'enzymes capables de catalyser l'hydrolyse de la liaison monoester ($-C-O-PO_3^{2-}$) présente entre la molécule de phosphate et la partie organique du composé (Chrost 1991). La molécule de phosphate ainsi libérée sera diluée de façon homogène au sein du pool de phosphate dissous, ou sera immédiatement assimilée par les microorganismes (assimilation couplée). Cette activité d'hydrolyse est généralement réalisée par les phosphomonoesters hydrolases (EC 3.1.3.) ou phosphomonoesterases ou encore plus communément appelées phosphatases. Ces enzymes produites par les microorganismes sont excrétées à l'extérieur de la cellule et restent soit liées à celle-ci (« ectoenzyme » selon Chrost 1990), soit sont libérées dans le milieu (« enzyme extracellulaire »). Chez les algues, ces enzymes seraient localisées sur la surface externe de la membrane cytoplasmique (Aaronson & Patni 1976) et/ou à la surface de la paroi cellulaire

(Brandes & Elston 1956) et/ou dans l'espace périplasmique entre la membrane cytoplasmique et la paroi cellulaire (Doonan & Jensen 1977). Chez les bactéries Gram négative qui constituent l'essentiel des bactéries marines, elles seraient localisées dans l'espace périplasmique et/ou sur la face interne ou externe de la membrane externe (Martinez & Azam 1993). Suivant leur pH optimum d'activité, ces enzymes sont classées parmi les phosphatases alcalines ou parmi les phosphatases acides. Les phosphatases alcalines (EC 3.1.3.1) et les 5'-nucléotidases (EC 3.1.3.5) ont été toutes deux découvertes à la fois chez les algues et les bactéries (Flynn et al. 1986, Ammerman & Azam 1991a, Martinez & Azam 1993) mais les premières constituent la classe d'enzyme la plus couramment étudiée en milieu aquatique. Les deux classes d'enzymes ont montré leur capacité de régénération du phosphate à partir du POD dans les écosystèmes naturels (Tamminen 1989, Ammerman 1991, Ammerman & Azam 1991b). Leur contribution à la régénération du phosphate s'ajoute aux autres processus de régénération tels que la libération de phosphate par l'excrétion du microzooplancton (Andersen et al. 1986), du mesozooplancton (Peters & Lean 1973, Vadstein et al. 1995) ou par le processus de "sloppy feeding".

Caractéristiques biochimiques des phosphatases alcalines

Elles varient suivant les microorganismes dont elles sont issues. Chez *Escherichia coli* et *Bacillus* sp. par exemple, les enzymes sont dimériques et leur poids moléculaire atteint respectivement 94000 et 110000 daltons. Toutefois des enzymes monomériques ont également été identifiées, notamment chez une bactérie marine des eaux de l'Antarctique de 68000 daltons de poids moléculaire. Les sous-unités de ces enzymes contiennent des liaisons avec des atomes de zinc, certaines sont essentielles à l'intégrité de la structure de l'enzyme et d'autres sont impliquées dans l'activité d'hydrolyse (Crofton 1982). L'activité des phosphatases alcalines (APA) est stimulée par le magnésium par effet allostérique, le magnésium se liant sur un site effecteur de chaque sous-unité de l'enzyme (Linden et al. 1977). Les ions magnésium, cofacteurs nécessaires à l'activité, sont en concentrations saturantes en milieu aquatique. D'autres ions divalents tels que les ions Zn^{2+} sont des inhibiteurs classiques de l'activité par leur liaison avec le site effecteur du magnésium (Bretaudière & Spillman 1984). Les valeurs du paramètre cinétique K_m de l'activité varient avec le substrat utilisé et atteignent typiquement de 0,037 mM à 2,6 mM pour le p-nitrophényl phosphate, 5,7 mM pour l'ATP et 4,8 mM pour le glucose-1-phosphate (base de données BRENDA, Schomburg 2001).

Phosphatases alcalines et spécificité des substrats

Les phosphatases alcalines ont la particularité d'être peu spécifiques de la partie organique du substrat, contrairement aux 5'-nucléotidases qui sont hautement spécifiques des nucléotides (Ammerman & Azam 1985, 1991a). Elles catalysent l'hydrolyse d'une grande variété d'esters de phosphate incluant les alcools primaires et secondaires, les sucres alcools, les alcools cycliques, les phénols, les amines et également certains polyphosphates (Chrost 1991). Les phosphodiester en revanche ne seraient pas hydrolysés. Elles seraient également capables de catalyser des transphosphorylations : les enzymes d'*Escherichia coli* par exemple catalysent à la fois l'hydrolyse de polyphosphates et le transfert de phosphate de ces polyphosphates (mais également de nucléosides di- et triphosphate, du mannose-6-phosphate) au glucose pour former le glucose-6-phosphate (Chrost 1991, Wynne et al. 1991). Toutefois, peu d'études ont été réalisées sur la variété des substrats utilisables par les phosphatases alcalines, en particulier chez les algues, contrairement aux bactéries, champignons et plantes supérieures. On peut supposer qu'il existe dans un même microorganisme des phosphatases alcalines spécifiques et non spécifiques. Généralement, on développe des substrats analogues les moins sélectifs possibles pour estimer l'activité de toute une classe d'enzymes.

Phosphatases alcalines et teneurs en phosphates du milieu

Les phosphatases alcalines sont sensibles à la disponibilité en phosphate du milieu, alors que les 5'-nucléotidases seraient peu affectées (Ammerman & Azam 1985, Tamminen 1989). La relation inverse entre l'APA et la teneur en phosphate du milieu, initialement suggérée par Fitzgerald & Nelson (1966), Berman (1970) et Perry (1972), a été largement établie depuis (Chrost et al. 1984, Chrost & Overbeck 1987, Siuda & Chrost 1987, Ammerman 1991, Yiyong & Xinyu 1997, Nausch 1998). Si cela suggère que la synthèse de ces enzymes est régulée directement par les teneurs en phosphate du milieu, il serait plus correct de l'associer à la teneur intracellulaire en phosphate, laquelle dépend de la concentration extracellulaire (Chrost 1991). Cette relation a été établie pour les algues en lac (Pettersson 1980, Gage & Gorham 1985), en eaux côtières (Myklestad & Sakshaug 1983) et en culture (Ruiz et al. 1997). Ainsi la synthèse de ces enzymes serait réprimée par de fortes teneurs relatives en phosphate et induite quand le pool intracellulaire de phosphate est faible (Chrost 1991). Cette régulation a été précédemment montrée pour les algues dans des expériences d'enrichissement en phosphate à l'échelle de quelques jours en milieu océanique (Perry 1972), en eaux douces

(Siuda & Chrost 1987, Rose & Axler 1998) et sur des espèces marines en culture (Gonzalez-Gil et al. 1998). Cette sensibilité au phosphate de l'APA des algues a suscité chez de nombreux auteurs sa mesure comme un indicateur de l'état nutritionnel du phytoplancton en terme de phosphore (Mykkestad & Sakshaug 1983, Gage & Gorham 1985). Pour cette raison elle a été beaucoup mesurée dans des milieux pauvres en phosphate pour montrer la limitation des communautés algales par le phosphore. Ainsi elle a été largement étudiée dans les lacs connus pour être déficients en phosphate une partie de l'année (Berman et al. 1972, Healey & Hendzel 1980, Smith & Kalff 1981, Chrost & Overbeck 1987, Hino 1988, Yiyong & Xinyu 1997, Rose & Axler 1998). Des études ont également été réalisées dans les eaux océaniques du Pacifique (Perry 1972, 1976), de l'Atlantique en mer des Sargasses et des Caraïbes (Rivkin & Swift 1979) et en eaux côtières (Taft et al. 1977, Kobori & Taga 1979). Ces études se sont multipliées très récemment depuis que la limitation de la croissance algale par le phosphore est mise en évidence de façon croissante en milieu marin (Björkman et al. 2000, Karl 2000b, Wu et al. 2000), en particulier en eaux côtières (Thingstad et al. 1993, Li et al. 1998, Nausch 1998).

Phosphatases alcalines liées aux algues mais aussi aux bactéries

Si la plupart des études se sont concentrées sur l'activité phosphatasique du phytoplancton, les bactéries sont également connues pour posséder une activité significative en lac (Francko 1983, Berman 1990, Cotner & Wetzel 1991), en eaux côtières (Martinez & Azam 1993) et en culture (Huang et al. 1998). Toutefois peu d'études évaluent simultanément l'activité algale et l'activité bactérienne. La plupart des mesures sont réalisées sur des échantillons non filtrés pour déterminer l'activité totale (Fisher et al. 1992, Cotner et al. 1997, Nausch 1998, Hoppe & Ullrich 1999) ou sur les fractions particulaire et dissoute ($< 0,2 \mu\text{m}$) en supposant que les algues ou les bactéries constituent la majorité de la fraction particulaire (Rose & Axler 1998). Etant donné le rôle des bactéries dans le cycle du phosphore (Vadstein et al. 1993) et leur capacité à être limitées par le phosphore dans leur croissance (Cotner et al. 1997, Thingstad et al. 1998), il semble important d'évaluer à la fois l'activité phosphatasique bactérienne et algale. Il en est de même pour l'activité dissoute ($< 0,2 \mu\text{m}$) qui peut contribuer significativement à l'activité totale (Chrost & Overbeck 1987). Elle inclut à la fois celle des enzymes libres mais aussi celle des enzymes associées aux colloïdes du milieu qui pourraient constituer la majorité de ce pool (Francko 1991, Boon 1993). Elle provient soit de la sécrétion

active de cellules phytoplanctoniques ou bactériennes vivantes, soit de leur pool intracellulaire par lyse cellulaire ou broutage (Wynne & Gophen 1981, Bohdansky et al. 1995), soit des organismes zooplanctoniques eux-mêmes (Boavida & Heath 1984, Karner et al. 1994).

Objectifs de recherche et présentation du manuscrit

Les quelques études réalisées dans les eaux du Golfe de Gascogne influencées par la Gironde (Artigas 1997, 1998, Herbland et al. 1998) ont mis en évidence la présence de blooms phytoplanctoniques printaniers « atypiques » pour des eaux tempérées. Ainsi, Herbland et al. (1998) ont montré que ces blooms étaient sévèrement limités par le phosphore, au vu des valeurs élevées des rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ dans l'eau et des rapports C:P et N:P de la matière organique particulaire. Ces blooms étaient dominés par des cellules algales de petite taille (40 à 70 % étaient inférieures à 3 μm) avec des taux de croissance élevés, de 0,4 et 0,8 j^{-1} dans la zone euphotique. Ces cellules subissaient une pression de broutage très importante (99 % j^{-1} de la production primaire totale) réalisée en majorité par le microzooplancton (Sautour et al. 2000). Le taux de sédimentation des particules était faible (Laborde et al. 1996) et dans les particules qui sédimentent l'activité protéolytique des bactéries était élevée (Delmas et al. en révision). Ces blooms printaniers présentaient par conséquent des caractéristiques plutôt estivales d'un « système de maintenance » basé sur une production régénérée (Platt et al. 1992).

Au vu de ces quelques résultats préliminaires, il a été proposé le scénario suivant : dans les eaux du Golfe de Gascogne influencées par la Gironde, des blooms phytoplanctoniques de type « printanier » (grosses cellules, production nouvelle établie à partir de la consommation de nitrate) pourraient avoir lieu très précocement dans l'année, probablement en hiver lors de périodes anticycloniques. La production primaire nouvelle issue de ces blooms pourrait être rapidement limitée par le phosphore, laissant place à une production de régénération précoce, qui pourrait être elle-même limitée par le phosphore jusqu'à ce que les sels nutritifs azotés soient épuisés à leur tour, plus tard dans l'année. Les tempêtes automnales rétabliraient l'équilibre nutritif des eaux du panache.

Les **objectifs** du présent travail sont donc d'apporter des réponses aux trois questions suivantes :

- (1) Existe t-il des blooms phytoplanctoniques précoces (hivernaux) dans le panache de la Gironde dus à la conjonction de conditions climatiques et hydrologiques favorables et quels sont les groupes planctoniques responsables de ces blooms ?
- (2) Dans quelle mesure la production primaire associée à ces blooms est-elle limitée précocement par le phosphore, et comment évolue cette limitation au cours de l'année ?
- (3) Quelles sont les conséquences de cette limitation sur la structuration des populations phytoplanctoniques et la nature du réseau trophique au printemps ?

Après avoir décrit dans un premier temps (**chapitre 1**) la stratégie d'échantillonnage et les méthodes utilisées au cours de cette étude, nous mettrons en évidence (**chapitre 2**) l'existence, le déterminisme et la récurrence des blooms phytoplanctoniques hivernaux dans le panache de la Gironde au cours de deux années successives (1998 et 1999). Puis nous étudierons (**chapitre 3**) la dynamique des populations algales au cours du cycle annuel, l'évolution saisonnière du facteur limitant leur croissance, et les conséquences de cette limitation sur la structuration des communautés phytoplanctoniques et la nature du réseau trophique au printemps. La compétition entre les algues et les bactéries pour l'acquisition du phosphore étant déterminante, que ce soit sous forme inorganique ou organique (Currie & Kalf 1984a,b,c, Caron 1994, Kirchman 1994, Danovaro 1998), leur contribution aux flux de phosphore, de même que la détermination de leur biomasse et de leur production respectives y seront évoquées. Enfin dans un dernier chapitre (**chapitre 4**), nous étudierons plus spécifiquement les différentes composantes du cycle du phosphore : le phosphate, le phosphore organique dissous et le phosphore organique particulaire (POP) seront décrits à la fois en terme de stock et de flux ainsi que les monoesters de phosphate, constituants labiles du POD.

Le cadre programmatique de l'étude

La première année (1998), notre étude a été menée dans le cadre du Chantier Atlantique du PNOC (Programme National d'Océanographie Côtière) sur la thématique de recherche « flux et devenir de contaminants métalliques d'origine girondine sur le plateau continental du Golfe de Gascogne ». Depuis 1999 elle se rattache au PNEC (Programme National Environnement Côtier) qui a fait suite au PNOC et qui a englobé le programme PNDR-GLOBEC (Programme National sur le Déterminisme du Recrutement) centré sur l'étude de l'anchois dans la même zone. Ces deux thématiques de recherche (« cadmium » et « anchois ») passaient par une problématique commune qui est la connaissance du réseau trophique planctonique dans le panache de la Gironde. La conjonction de ces deux programmes nationaux nous a permis d'assurer la continuité des campagnes à la mer et de disposer des moyens nécessaires pour répondre aux questions initialement posées.

1. Matériels et méthodes

1.1. Stratégie d'échantillonnage

Les campagnes BIOMET 2 et BIOMET 3 (Tableau 1) sont programmées dans le but (1) de définir les conditions antérieures au développement phytoplanctonique dans le panache de la Gironde (BIOMET 2) et (2) de vérifier l'existence de blooms précoces et de comprendre leur déterminisme (BIOMET 3). Compte tenu de l'existence de blooms hivernaux en 1998, la campagne PLAGIA 1 (Tableau 1) est réalisée pour vérifier si le déclenchement de ces blooms est un scénario reproductible d'une année sur l'autre ou bien si l'année 1998 est une année « exceptionnelle ». Elle est également réalisée pour étudier plus précisément le rôle du phosphore pendant ces blooms. Les campagnes PEGASE et PLAGIA 2 à 6 (Tableau 1) sont programmées pour appréhender le rôle du phosphore sur la production planctonique en période printanière, estivale et automnale et notamment sur la structuration du réseau trophique. Toutes ces campagnes se sont déroulées sur les navires océanographiques de l'IFREMER, Thalassa, Thalia ou Gwen Drez.

Année	Nom	Période	Navire Océanographique
1998	BIOMET 2	8-21 janvier	Thalassa
	BIOMET 3	25 février-11 mars	Thalassa
	PEGASE	7-21 juin	Thalassa
1999	PLAGIA 1	21-28 février	Thalia
	PLAGIA 2	24-30 avril	Thalia
	PLAGIA 3	25 mai-1 juin	Thalia
	PLAGIA 4	22-25 juin	Gwen Drez
	PLAGIA 5	12-15 juillet	Gwen Drez
	PLAGIA 6	4-7 octobre	Thalia

Tableau 1. Campagnes d'échantillonnage en 1998 et en 1999

Les campagnes BIOMET 2 et BIOMET 3 (hiver 1998) consistent en un réseau de stations couvrant la zone sous influence des apports de la Gironde de son embouchure aux eaux océaniques atlantiques ($S > 35,5$) (Fig. 2). Cette couverture permettant une vision quasi

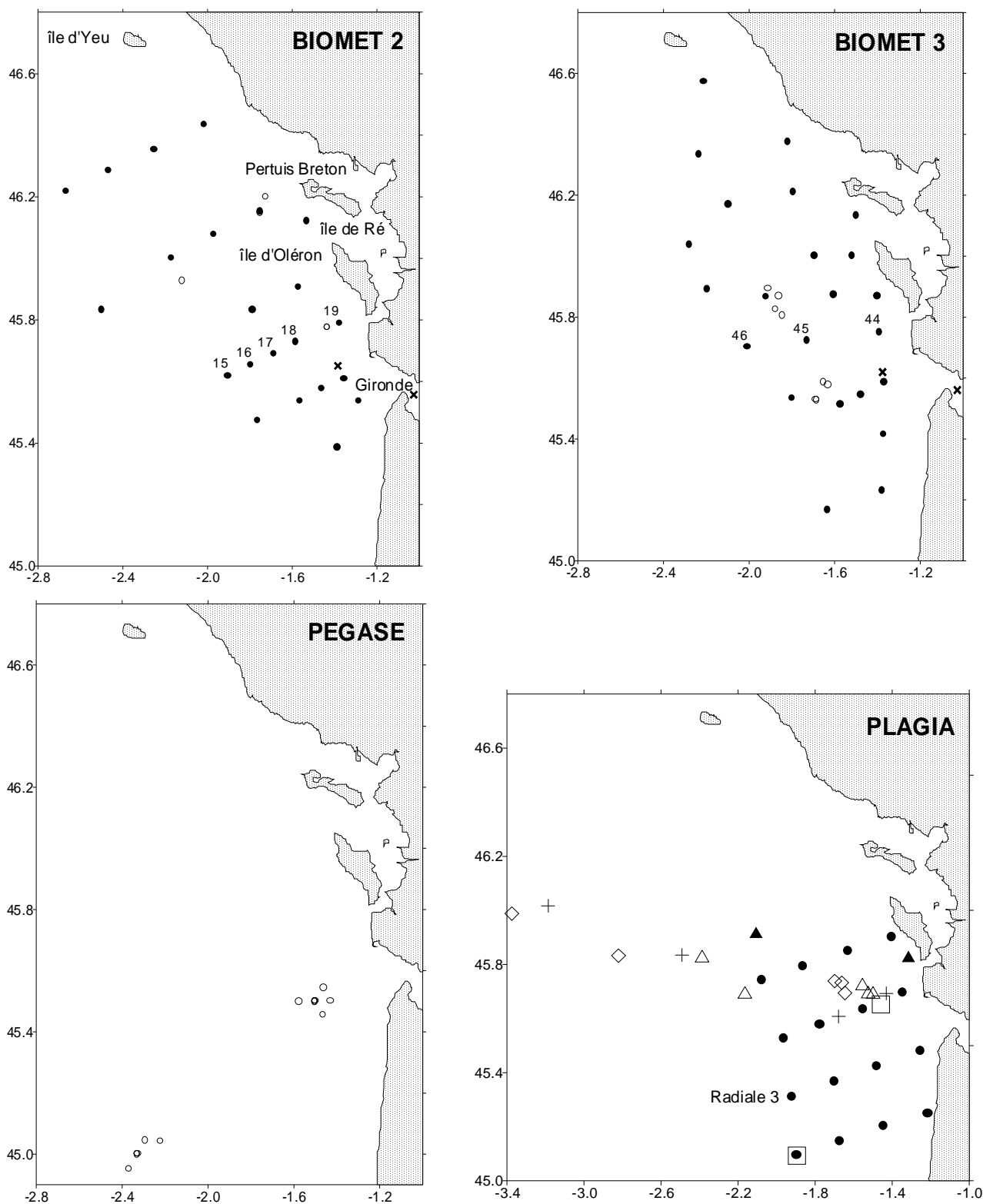


Fig. 2. Stations échantillonnées en 1998 et 1999. ● : réseau ; stations fixes : × : pour l'établissement d'une droite de dilution, ○ : à BIOMET 2, BIOMET 3 ou PEGASE ; Δ : à PLAGIA 1 ; + : à PLAGIA 2 ; ◇ : à PLAGIA 3 ; ▲ : à PLAGIA 5 ; □ : à PLAGIA 6

synoptique du panache de la Gironde est compatible avec l'utilisation d'un grand bateau (N/O Thalassa). Le choix du réseau de stations s'est appuyé (1) sur les simulations au début de chaque campagne du modèle hydrodynamique 3D de l'IFREMER pour la façade atlantique (Lazure & Jegou 1998), (2) sur les images SeaWiFS (Sea-viewing Wide Field-of-view Sensor) reçues à bord, quand les conditions météorologiques sont favorables, et, en dernier recours, (3) sur l'enregistrement en continu de la température et la salinité de subsurface (3 m) par le thermosalinographe du bord. Des mesures hydrologiques, chimiques et biologiques classiques sont réalisées sur les stations du réseau (Tableau 2). Des mesures complémentaires d'études de processus (production primaire et bactérienne, cinétique d'assimilation des phosphates, activité phosphatase,...) sont effectuées au cours de stations fixes (Tableau 2) dans une gamme de salinité typique du panache (33-35,5) et en eaux océaniques strictes ($S > 35,5$) quand cela est possible. Chronologiquement à BIOMET 3, un premier groupe de stations fixes est d'abord réalisé (stations les plus au sud, Fig. 2) puis le réseau et enfin le deuxième groupe de stations fixes. Par ailleurs, afin d'estimer les apports girondins en sels nutritifs et en pigments chlorophylliens (droites de dilution), des prélèvements réguliers de subsurface (1 m) sont réalisés à l'embouchure de la Gironde et à proximité (Fig. 2) au cours de demi cycles de marée en recherchant la plus large gamme de salinité possible.

La campagne PEGASE (juin 1998) est composée de deux sites ateliers de stations fixes, l'un situé à l'embouchure de la Gironde et l'autre situé aux accores du plateau continental (Fig. 2). Cette stratégie est adoptée de manière à pouvoir comparer des eaux typiquement sous influence de la Gironde avec des eaux océaniques, ces deux sites correspondant par ailleurs à des zones de recrutement de l'anchois.

Les campagnes PLAGIA (1999) consistent en un même réseau de 16 stations (quatre radiales de quatre stations, Fig. 2) centrées autour de l'embouchure de la Gironde. Des stations fixes supplémentaires d'études de processus et/ou des stations nécessaires à la réalisation d'expériences d'enrichissement (Tableau 2) sont également échantillonnées (excepté à PLAGIA 4), les unes situées à proximité de l'embouchure de la Gironde, les autres en recherchant une référence la plus océanique possible (Fig. 2).

1.2. Mesures hydrologiques

Les données hydrologiques sont obtenues grâce à l'utilisation de sondes CTD mesurant la pression, la température, la conductivité et la salinité : bathysonde SeaBird SBE 9/11 en janvier et début mars 1998, SBE 19-03 en juin 1998 et SBE 19 en 1999. Les profils CTD sont réalisés en début de station afin de choisir les profondeurs échantillonnées en fonction de la structure hydrologique rencontrée. A partir des profils de température et de salinité, la densité ou l'excès de masse volumique σ_t est calculée. La profondeur de la couche de mélange (z_m) est définie comme étant la profondeur à partir de laquelle la différence de densité $\Delta\sigma_t$ avec la densité de surface devient supérieure à $0,2 \text{ kg m}^{-3}$.

Des mesures de PAR (Photosynthetically Available Radiation, 400-700 nm) réalisées en janvier et début mars 1998 sont effectuées à l'aide d'un quantamètre (Biospherical QSP-200) couplé à la bathysonde. Le coefficient d'atténuation verticale de la lumière (K) est déterminé à partir de la relation de décroissance de l'irradiance $E(z)$ avec la profondeur z , faisant intervenir l'irradiance incidente (E_0) et en utilisant les données de PAR : $E(z) = E_0 \times e^{-Kz}$ qui peut être réarrangée ainsi : $\ln E(z) = -Kz + \ln E_0$. K est déterminé par régression linéaire de cette relation selon le critère des moindres carrés. On suppose classiquement que la profondeur de la couche euphotique (z_e) correspond à la profondeur du 1 % d'irradiance en surface et par conséquent est calculée comme suit : $z_e = -(\ln 0,01)/K$.

Parallèlement aux mesures réalisées à bord, l'irradiance incidente totale c'est à dire du spectre 300-2500 nm (W m^{-2}) est enregistrée en continu (toutes les dix minutes) à l'aide d'un pyranomètre Aanderaa (modèle 2770) au site expérimental des marais du CREMA à L'Houmeau. Ces mesures sont validées avec les données de Météo France à La Rochelle mettant à disposition les irradiances incidentes totales intégrées sur la journée. Les données d'irradiance incidente totale sont converties en PAR ($\mu\text{Einst m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en utilisant le rapport de l'énergie du spectre 400-700 nm à l'énergie totale (0,425) et selon une moyenne de quanta par unité d'énergie de $2,77 \times 10^{18} \text{ quanta s}^{-1} \text{ W}^{-1}$ (Jitts et al 1976, Morel & Smith 1974).

1.3. Prélèvements

Les prélèvements d'eaux nécessaires aux différentes mesures chimiques et biologiques sont effectués à l'aide de bouteilles en PVC Niskin de 8 et/ou 12 litres agencées sur un système « rosette » (1998) ou organisées en palanquée (1999).

1.4. Les stocks

1.4.1. Les différentes formes du phosphore

1.4.1.1. Phosphate

Le phosphore minéral dissous est présent dans l'eau de mer essentiellement sous forme d'ions phosphate correspondant aux différentes étapes de dissociation de l'acide orthophosphorique (H_3PO_4) :



La proportion de ces différentes formes dépend surtout du pH mais aussi de la pression, de la température et de la disponibilité des différents cations et anions présents dans l'eau de mer (Cembella et al. 1984a, Millero 1996). Dans la gamme de pH de 7 à 8,5 typique de l'eau de mer, la forme HPO_4^{2-} est toujours majoritaire devant les formes PO_4^{3-} et enfin H_2PO_4^- (Cembella et al. 1984a).

Méthodes existantes

La méthode de base de dosage des ions orthophosphates a été développée par Murphy & Riley (1962). Elle consiste (1) en la formation d'acide 12-molybdophosphorique ou phosphomolybdate (complexation des ions phosphate avec du molybdate d'ammonium en présence de potassium antimonyl tartrate ou antimoine III et d'acide sulfurique) puis (2) en la réduction de ce composé (avec l'acide ascorbique) produisant un complexe de couleur violet-bleu. La concentration de ce chromogène est mesurée par spectrophotométrie. Cette méthode est appliquée sur l'échantillon d'eau de mer filtrée, classiquement sur des filtres Whatman GF/F ou des filtres d'une porosité de 0,45 ou 0,2 μm . De nombreuses variations autour de cette méthode originale ont été apportées pour pallier aux inconvénients qu'elle présente.

La complexation du molybdate avec d'autres ions tels que le silicate, l'arsenate pouvant interférer avec celle des ions phosphates, les conditions d'acidité du milieu ont été modifiées (Campbell & Thomas 1970, Johnson 1971). Toutefois, le phosphomolybdate étant le premier composé à se former, l'interférence avec d'autres ions peut être évitée, simplement en réalisant la lecture au spectrophotomètre le plus rapidement possible après ajout et action du réactif. L'interférence avec le silicate concernerait des milieux où sa teneur est supérieure à 200 μM alors que l'interférence avec l'arsenate serait limitée par leur faible concentration en mer (10-30 nM) (Koroleff 1983).

Certains composés du POD facilement hydrolysables tels que des monoesters de phosphate (glucides, glycérophosphates...) peuvent réagir au cours de la procédure, entraînant une surestimation de la concentration de phosphate (Rigler 1968). Strickland & Parsons (1972) ont appelé « **phosphore réactif soluble** », le pool de phosphore mesuré par la méthode de Murphy & Riley (1962), comprenant à la fois le phosphate et une part inconnue de POD. McKelvie (2000) emploie le terme « **phosphore réactif filtrable** » pour tenir compte des incertitudes liées à la filtration (bactéries non retenues par le filtre, phosphore adsorbé sur des colloïdes pouvant réagir (Stainton 1980), rupture de cellules au cours de la filtration). Des modifications telles que la réduction de l'acidité de l'échantillon et du temps d'exposition au pH acide (Chamberlain & Shapiro 1969), la complexation de l'excès de molybdate avec d'autres ions ajoutés (Dick & Tabatabai 1977) ont été apportées pour réduire l'interférence du POD mais ces techniques sont peu utilisées. Des techniques électrochimiques, chromatographiques ou encore enzymatiques ont été développées mais elles sont assez peu sensibles et sont difficilement applicables en routine (McKelvie et al. 1995). Des études récentes de Monaghan & Ruttenberg (1999), Thomson-Bulldis & Karl (1998) et Kérouel & Aminot (1996) montrent que l'hydrolyse de divers composés du pool de POD, labiles et réfractaires, est pour la plupart inférieure à 2 %, de toute façon inférieure à 5 % pour les premiers auteurs, inférieure à 10 % pour les seconds et seuls deux composés sur dix ont atteint 7 et 14 % pour les troisièmes. Ces études minimisent la part de phosphore organique soluble « réactif ».

Enfin, des modifications visant à diminuer la limite de détection de la méthode originale (typiquement 20-30 nM pour une cuve de 10 cm de trajet optique) sont développées comme l'extraction du phosphomolybdate à l'aide de solvant tels que l'isobutanol (Proctor & Hood

1954, Heron 1962, Stephens 1963), l'isobutyl acétate (Cescon & Scarazzato 1973), le n-hexanol (Strickland & Parsons 1972, Koroleff 1983). Même si la limite de détection peut être diminuée au moins d'un facteur 5 par ces méthodes, leur précision analytique est moins bonne et elles sont difficilement applicables en mer. Des techniques de préconcentration impliquant des résines échangeuses d'anions ont également été développées mais ne sont applicables qu'en eaux de faible force ionique (Freeman et al. 1990, Camarero 1994). Récemment, Karl & Tien (1992) ont développé la méthode MAGIC (MAGnesium Induced Coprecipitation), dont le principe est de concentrer le phosphate avant l'ajout du réactif par précipitation de brucite $Mg(OH)_2$ en condition alcaline, suivie d'une centrifugation, puis d'une redissolution en milieu acide. La méthode atteindrait une limite de détection inférieure à 5 nM, de bons niveaux de précision (1 à 3 % dans la gamme 10–100 nM) et limiterait par ses conditions alcalines l'interférence de composés organiques du phosphore. Les modifications apportées par Thomson-Bulldis & Karl (1998) permettent de réduire les interférences et d'être encore plus sensible, en introduisant un radioisotope du phosphore. Toutefois, elle est de ce fait moins facilement utilisable en routine.

Dans les eaux estuariennes de la Gironde et à fortiori dans les eaux du panache en 1998 et en 1999, les teneurs en silicate ne dépassent pas 50 μM . Les teneurs en arsenic dissous total incluant l'arsenate mais aussi d'autres formes dissoutes « non réactives » mesurées en janvier et début mars 1998 atteignent entre 20 et 30 nM en moyenne pour des salinités comprises entre 30 et 33 (Michel et al. 2000). Par conséquent l'interférence des silicates et des arsenates est minimale dans notre étude. Si certains préconisent la congélation comme une méthode adéquate de conservation pour l'analyse des phosphates même aux faibles concentrations (Dore et al. 1996, McKelvie 2000), nous avons préféré réaliser **la mesure à bord** dans l'heure qui a suivi le prélèvement de l'eau.

Protocole utilisé

La méthode de Murphy & Riley (1962) décrite par Strickland & Parsons (1972) est utilisée. Dans le reste du manuscrit, nous continuerons à utiliser le terme « **phosphate** » pour désigner les entités chimiques mesurées par cette méthode. Le réactif est préparé au maximum 5 h avant son utilisation et conservé au réfrigérateur. Il est composé de molybdate d'ammonium, d'acide sulfurique, d'acide ascorbique et d'antimoine III mélangés dans cet ordre et dans un rapport de volume 1:2,5:1:0,5. L'eau de mer prélevée est préfiltrée manuellement à l'aide

d'une seringue en utilisant des filtres en fibre de verre Whatman GF/F. 5 ml de réactif sont ajoutés à 50 ml d'échantillon. Après 5 à 10 minutes de réaction, l'absorbance de l'échantillon est mesurée dans une cuve de 10 cm de trajet optique au spectrophotomètre (Shimadzu UV 160) à une longueur d'onde de 885 nm. Un blanc de cuve est réalisé systématiquement avec de l'eau MilliQ embarquée ou préparée à bord. La limite de détection et la précision sont respectivement de 20 nM et 10 nM.

1.4.1.2. Phosphore organique dissous

Méthodes existantes

Le principe est de convertir toutes les formes dissoutes du phosphore constituant le **phosphore dissous total** (PDT), en phosphates qui sont ensuite dosés par la méthode au phosphomolybdate. La différence entre le PDT et les phosphates initialement présents dans l'eau de mer est supposée représenter le POD. Toutefois, certains composés inorganiques du phosphore comme des polyphosphates pouvant être également convertis (Strickland & Parsons 1972), le terme « **phosphore non-réactif soluble** » serait plus adapté (Benitez-Nelson 2000). Pour simplifier nous continuerons à utiliser le terme **POD** dans le manuscrit.

La conversion du POD en phosphate est généralement réalisée par l'utilisation d'une haute température associée à un réactif au pouvoir oxydant fort. Initialement effectuée à l'acide perchlorique (Hansen & Robinson 1953, Strickland & Parsons 1972), cette digestion a été améliorée, la méthode étant trop longue, dangereuse et peu pratique. Elle est plus couramment réalisée par oxydation au persulfate en conditions acides (Menzel & Corwin 1965, Koroleff 1983) ou en conditions initiales alcalines, permettant la mesure simultanée de l'azote organique dissous (Koroleff 1977, Valderrama 1981) ou par photooxydation aux UV (Armstrong et al. 1966, Ridal & Moore 1990, Golimowski & Golimowska 1996). Elle est également réalisée plus rarement par combustion à haute température suivie d'une hydrolyse à l'acide chlorhydrique (Solorzano & Sharp 1980) ou encore par une combinaison de ces méthodes (Ridal & Moore 1990, 1992, Karl & Tien 1992).

En testant ces méthodes vis à vis de divers composés organiques du phosphore, Monaghan & Ruttenberg (1999) trouvent que l'oxydation acide au persulfate n'agit pas sur certains composés parmi les phosphonates (liaison C-P) et les phospholipides alors que la méthode de

Solorzano & Sharp (1980) est la plus performante. Elle serait aussi la méthode de référence pour Kérouel & Aminot (1996). Thomson-Bulldis & Karl (1998) trouvent au contraire de bons résultats par les deux types d'oxydation au persulfate (acide et alcaline) vis à vis des mêmes classes de composés, phosphonates et phospholipides mais les composés testés ne sont pas tout à fait les mêmes. En revanche, ils obtiennent de très mauvais résultats par la photooxydation aux UV vis à vis de nucléotides di- et triphosphates et de polyphosphates inorganiques, ce qui a conduit Karl & Yanagi (1997) à séparer le phosphore dissous labile aux UV et le phosphore dissous stable aux UV. La comparaison entre cinq méthodes par Ormazabal & Statham (1996) aboutit également à de plus faibles teneurs en POD mesurées par photooxydation. Ridal & Moore (1990) trouvent de meilleurs résultats en combinant une oxydation aux UV et au persulfate (condition acide) plutôt qu'en utilisant les deux méthodes séparément, montrant ainsi que chaque méthode ne recouvre pas la totalité du phosphore dissous.

Protocole utilisé

L'eau de mer est préfiltrée sur 0,2 µm (filtres en polycarbonate Nuclepore) à bord et les filtrats sont immédiatement congelés dans des flacons en verre préalablement rincés (HCl 10 %) puis calcinés. Nous avons utilisé en 1998 des filtres en fibre de verre Whatman GF/F préalablement rincés (HCl 1 N) et calcinés (12 heures à 400 °C) et en 1999 des filtres en polycarbonate (Nuclepore) de 0,2 µm. La détermination des teneurs en POD est réalisée à l'aide de la procédure d'oxydation alcaline au persulfate (Koroleff 1977, Valderrama 1981) recommandée par Kérouel & Aminot (1996). Des soins particuliers sont apportés au rinçage de la verrerie (HCl 10 % puis eau MilliQ). Après oxydation (réactif + autoclavage 30 minutes à 120 °C), les concentrations de phosphates sont mesurées à l'aide d'un autoanalyseur Skalar selon le protocole de Strickland & Parsons (1972) adapté pour cet appareil. Aux concentrations ainsi obtenues, on soustrait les teneurs initiales en phosphate de l'eau de mer mesurées à bord pour obtenir les concentrations de POD.

1.4.1.3. Phosphore organique particulaire

Protocole utilisé

Le principe de la mesure du POP est strictement le même que pour le POD, les méthodes devant tenir compte de la contamination éventuelle apportée par le filtre (contrôle avec filtre vierge). Les filtres utilisés en 1998 et 1999 sont préparés de la même manière que pour la mesure du POD. En 1999, des filtrations supplémentaires sont réalisées aux stations fixes sur des filtres en polycarbonate (Nuclepore) de 1 µm. Après filtration, les filtres sont immédiatement congelés. L'analyse est réalisée par oxydation alcaline au persulfate (Koroleff 1977, Valderrama 1981) adaptée pour le POP (Pujo-Pay & Raimbault 1994) et selon la procédure décrite pour le POD.

1.4.1.4. Monoesters de phosphate

Les monoesters de phosphate correspondent aux molécules de phosphates attachées par une liaison monoester ($-C-O-PO_3^{2-}$) à un radical organique, tels que les sucres (glucose-phosphate, ribose-phosphate), les glycérophosphates,.... Ils constituent majoritairement le pool d'EHP (Enzyme Hydrolysable Phosphate), de composés facilement hydrolysables par les phosphomonoestérases alcalines, ainsi défini par Strickland & Parsons (1972). Ce pool est constitué essentiellement de monoesters de phosphate mais aussi d'une petite fraction de polyphosphates inorganiques linéaires.

Méthodes existantes

Deux méthodes sont utilisées pour la détermination des concentrations de monoesters de phosphate. La première décrite par Strickland & Parsons (1972) consiste à incuber l'échantillon d'eau de mer avec une solution pure de phosphatase alcaline d'*Escherichia coli*. La différence de concentration de phosphate avant et après l'incubation correspond aux phosphates libérés par l'hydrolyse de tous les monoesters de phosphate par l'enzyme. Cette technique a été largement utilisée (Taft et al. 1977, Solorzano 1978, Francko & Heath 1979, Kobori & Taga 1979, Rivkin & Swift 1979). Une seconde méthode développée par Chrost et al. (1986) consiste à incuber l'échantillon d'eau de mer préfiltrée sur 0,2 µm (et dont la stérilité est maintenue par ajout de chloroforme) et à suivre la concentration de phosphate au cours du

temps, concentration qui atteint généralement un plateau après quelques jours. La différence entre la valeur initiale et la valeur au plateau correspond à la teneur en monoesters de phosphate hydrolysés par les phosphomonoesters hydrolases dissoutes dans le milieu. En comparant les deux méthodes, Chrost et al. (1986) trouvent des écarts de concentration importants en milieux eutrophes et négligeables dans des eaux qui le sont moins. Ils montrent que la phosphatase alcaline d'*E. coli* est inhibée à partir de concentrations de phosphate supérieures à 0,8 μM et surtout supérieures à 1,6 μM alors que les enzymes dissoutes du milieu ne le sont pas pour des teneurs inférieures à 6 μM . La méthode de Chrost et al. (1986) est par conséquent recommandée pour les études de milieux eutrophes. Elle a été utilisée par ses auteurs (Chrost et al. 1984, Chrost & Overbeck 1987) mais la mesure des monoesters de phosphate est relativement peu réalisée depuis, étant donné les problèmes d'inhibition par le phosphate présent dans le milieu (McKelvie 2000). Récemment, Shan et al. (1993) ont conçu un système d'analyse en continu de ce pool, système équipé d'un réacteur où la phosphatase alcaline d'*E. coli* est immobilisée, lui conférant de nouvelles propriétés, notamment la nécessité de plus grandes concentrations de phosphate pour l'inhibition de son activité. La méthode a été appliquée avec succès en eaux douces, aux eaux de rejets et sur les sédiments (Shan et al. 1994).

Protocole utilisé

La méthode que nous avons utilisée dérive de celle de Strickland & Parsons (1972). Les teneurs en phosphate des eaux du panache de la Gironde n'ayant pas dépassé 0,9 μM , on peut supposer que l'inhibition de l'activité de la phosphatase alcaline d'*E. coli* par le phosphate est négligeable.

L'eau de mer est préfiltrée et les filtrats sont conservés de la même façon que pour l'analyse du POD. La détermination des teneurs en monoesters de phosphate est réalisée au laboratoire. La solution de phosphatase alcaline pure d'*E. coli* type III (Sigma ; 200 Unité (U) ml^{-1} dans $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2,5 M ; 60 U mg^{-1} protéine) est conservée à 5°C au réfrigérateur. La solution fille nécessaire à la méthode (0,2 U ml^{-1}) est préparée le jour de l'analyse.

50 ml d'échantillon sont incubés avec 1 ml d'une solution de tampon Tris (pH 8) et 1 ml de la solution de phosphatase alcaline (0,2 U ml^{-1}) entre 25 et 30 °C pendant 2 heures. Les concentrations de phosphate sont déterminées immédiatement après action de l'enzyme selon le protocole utilisé pour l'analyse des phosphates en mer (Cf. page 24). Ces concentrations

sont soustraites aux teneurs initiales en phosphate de l'eau de mer mesurées à bord pour obtenir les teneurs en monoesters de phosphate. Les phosphates éventuellement présents dans le tampon ou dans la solution d'enzyme sont déterminés par la réalisation d'un contrôle utilisant 50 ml d'eau MilliQ. La calibration est effectuée à l'aide de solutions de glucose-6-phosphate dissous dans l'eau MilliQ dans une gamme de concentrations allant de 0,05 à 1 μM , ce qui nous a permis de vérifier que le rendement enzymatique atteignait 100 %.

1.4.2. Nitrate, nitrite, ammonium et silicate

Une partie de l'eau préfiltrée manuellement à l'aide d'une seringue et de filtres Whatman GF/F est utilisée pour la mesure immédiate du phosphate à bord et l'autre partie est congelée (-20 °C) dans des flacons en polyéthylène pour l'analyse ultérieure du nitrate, nitrite, ammonium et silicate. Ceux-ci sont mesurés à l'aide d'un autoanalyseur Skalar selon les protocoles de Strickland & Parsons (1972) adaptés pour cet appareil. Les limites de détection respectives du nitrate, nitrite, ammonium et silicate sont de 50, 30, 50 et 100 nM et les précisions atteintes sont respectivement 50, 20, 50 et 100 nM.

1.4.3. Carbone et azote organique particulaire

Pour la mesure du carbone et de l'azote organique particulaire (COP, NOP), l'eau de mer est filtrée sur des filtres en fibre de verre Whatman GF/F (25 mm) préalablement calcinés (12 heures à 400°C). Les filtres sont immédiatement congelés (-20 °C) après filtration. Au laboratoire, ils sont décarbonatés sous vapeur d'acide chlorhydrique (36 % en concentration finale) pendant une nuit avant d'être introduits dans un autoanalyseur élémentaire (Carlo Erba 1500). L'échantillon y subit une combustion complète (1020 °C) et les gaz formés (CO_2 et N_2) sont séparés par une colonne de chromatographie puis quantifiés.

1.4.4. Biomasse phytoplanctonique

La concentration de chlorophylle *a* (chl *a*) est utilisée comme estimateur de la biomasse du phytoplancton. La biomasse totale est évaluée par filtration sur des filtres en fibre de verre Whatman GF/F. Des filtrations différentielles sont réalisées au cours des stations fixes (sur toute la colonne d'eau en 1998 et dans la couche de mélange fin février, avril, mai et début

octobre 1999) à l'aide de tamis en nylon de 20 µm et de filtres en polycarbonate (Nuclepore) de 3 µm. Les filtres sont immédiatement congelés (-20 °C) après filtration.

La concentration de chl *a* et de ses formes dégradées, les phéopigments *a* (chlorophyllide *a*, phéophytine *a*, phéophorbide *a*) sont mesurées par la procédure d'acidification et de détection par fluorimétrie de Yentsch & Menzel (1963), Holm-Hansen et al. (1965). Cette méthode suppose (1) que la chl *a* en condition acide est convertie en phéophytine *a* (pheo *a*) avec un rendement de 100 % et (2) que la fluorescence molaire de la pheo *a* est plus faible que celle de la chl *a*. Elle suppose également l'absence de chlorophylle *b* qui entraînerait une surestimation des concentrations de phéopigments *a* (Welschmeyer 1994).

Chl *a* et phéopigments sont extraits par le méthanol à 100 % (5 ml, 1 h à 5 °C) et par sonication (3 fois 1 min au cours de l'extraction), méthode conseillée pour des mesures de routine par Wright et al. (1997), excepté en janvier et début mars 1998 pour lesquelles ils sont extraits par l'acétone à 90 % (7 ml, 12 h à 5 °C), solvant le plus utilisé jusqu'alors (Scor-Unesco 1966, Strickland & Parsons 1972). Les filtres sont ensuite tassés au fond des tubes, lesquels sont centrifugés 10 minutes à 2000 tr min⁻¹ et à 4 °C. Les surnageants sont transvasés dans des tubes adaptés à la lecture au fluorimètre (Turner Designs 10-AU). La lecture de la fluorescence (excitation dans le spectre 340-500 nm, émission dans le spectre > 665 nm) est réalisée avant et après acidification en ajoutant 10 µl de HCl 0,33 N par ml d'extrait. Une attention toute particulière est prêtée à la valeur du rapport d'acidification (rapport des fluorescences avant, F, et après acidification, Fa) qui doit être inférieure à sa valeur maximale mesurée pour une solution de chl *a* pure puis de chl *a* pure acidifiée (2,5 pour le fluorimètre utilisé).

Les teneurs en chl *a* et en pheo *a* sont calculées à l'aide des équations suivantes :

$$\text{chl } a \text{ (}\mu\text{g l}^{-1}\text{)} = [(F-Fa) \times v] / [(K-Ka) \times V]$$

$$\text{pheo } a \text{ (}\mu\text{g l}^{-1}\text{)} = [(KFa-KaF) \times v] / [Ka \times (K-Ka) \times V]$$

F : fluorescence avant acidification

Fa : fluorescence après acidification

K : constante d'étalonnage pour la chl *a* pure (K = F/chl *a*)

Ka : constante d'étalonnage pour la pheo *a* pure ou chl *a* pure acidifiée (Ka = Fa/pheo *a*)

V : volume filtré

v : volume de l'extrait

K et K_a sont déterminées à l'aide d'une gamme de concentrations de chl *a* pure (Sigma) en solution dans l'acétone 90 % ou le méthanol 100 %. La concentration de la solution mère de chl *a* est déterminée au spectrophotomètre à 664 nm pour l'acétone 90 % (coefficient d'extinction spécifique de $87,67 \text{ l g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, Jeffrey & Humphrey 1975) et à 665 nm pour le méthanol 100 % (coefficient d'extinction spécifique de $79,95 \text{ l g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, Porra et al. 1989).

Le carbone phytoplanctonique est estimé à partir des teneurs en chl *a* et en utilisant un rapport C:chl *a* de 50:1, qui appartient à la gamme de facteurs trouvés dans la littérature même si celle-ci est large (27-67, Rieman et al. 1989, 10-300 Cloern et al. 1995).

1.4.5. Espèces phytoplanctoniques

En début mars 1998, les espèces phytoplanctoniques en surface, supérieures à 20 μm , sont échantillonnées en filtrant un litre d'eau de mer sur un tamis en nylon de 20 μm . Les cellules sont remises en suspension dans 80 ml d'eau de mer filtrée et l'échantillon est stocké à l'obscurité après addition de 2 ml de lugol. En 1999, l'eau de mer prélevée en surface est directement introduite dans des flacons de 200 ml avec 2,5 ml de lugol. Les cellules phytoplanctoniques sont identifiées et comptées à l'aide d'un microscope inversé Nikon (adaptation de la méthode d'Utermöhl 1931).

1.4.6. Biomasse bactérienne

Les échantillons destinés au dénombrement bactérien sont fixés par ajout de formaldéhyde (2 % en concentration finale) tamponné (pH 8) préfiltré trois fois sur 0,2 μm et sont conservés au réfrigérateur jusqu'au jour du comptage. L'ADN bactérien est coloré spécifiquement au 4,6-diamidino-2-phénylindole (DAPI, $2,5 \text{ mg l}^{-1}$) (Porter & Feig 1980) puis l'échantillon est filtré sur une membrane en polycarbonate (Isopore) noire de 0,2 μm , laquelle est montée entre lame et lamelle avec l'huile à immersion. Les bactéries sont énumérées par comptage direct grâce à un microscope à épifluorescence Leitz équipé d'un objectif PL APO 100 (grossissement x 1250) et d'une lampe à vapeur de mercure (HBO, 50 W). Les échantillons sont dilués de telle manière à ne pas avoir plus d'une vingtaine de bactéries par champ. Chaque échantillon est compté en double sur 20 champs.

La biomasse bactérienne carbonée est estimée en supposant un contenu cellulaire de 16 fg C, ce facteur étant dans la gamme de ceux cités dans la littérature (20 fg C, Lee & Fuhrman 1987, 13-19 fg C, Simon & Azam 1989) et de ceux mesurés précédemment par Artigas (1998) dans le panache de la Gironde (10-18 fg C).

1.5. Les flux

1.5.1. Assimilation du phosphate et régénération du phosphore

1.5.1.1. Assimilation du phosphate

Méthodes existantes

L'assimilation du phosphate est classiquement mesurée à l'aide de radiotraceurs du phosphore dont le devenir entre divers compartiments est évalué au cours du temps (Rigler 1956, Watt & Hayes 1963, Ammerman 1993). Les principes de cette méthode sont ceux de toute méthode utilisant un traceur (Sheppard 1962). Sur les sept isotopes du phosphore qui peuvent exister, le ^{31}P est le seul isotope stable et le plus abondant naturellement. ^{28}P , ^{29}P , ^{30}P et ^{34}P ont une durée de demi vie très courte (moins d'une seconde à quelques minutes). Le ^{32}P et le ^{33}P sont les seuls compatibles, en terme de demi vie (respectivement 14,3 et 25,3 jours), avec la mesure de l'assimilation et leur radioactivité spécifique très élevée ($> 4000 \text{ Ci mmol}^{-1}$) permet de les utiliser à l'état de traceur. Depuis qu'il est disponible sur le marché à un prix raisonnable, le ^{33}P est employé préférentiellement car, non seulement sa demi vie est plus longue que celle du ^{32}P , mais il possède également une énergie de désintégration moins élevée (250 KeV contre 1710 KeV), ce qui rend son utilisation moins dangereuse et contraignante.

Pour mesurer la cinétique d'assimilation du radiotraceur par les microorganismes, deux solutions sont possibles : (1) suivre l'apparition du radiotraceur dans la fraction particulaire (Currie & Kalff 1984b, Thingstad et al. 1993, Ammerman 1993), (2) suivre sa disparition de la fraction dissoute (Lean & White 1983, Cembella et al. 1984b). Alors que de nombreuses études de l'assimilation et de la régénération d'azote utilisent des méthodes de dilution isotopique (Glibert et al. 1982, Slawyk & Raimbault 1995, Diaz & Raimbault 2000), peu d'études de la dynamique du phosphore utilisent ce type de méthode (Harrison 1983, Harrison

& Harris 1986). L'activité spécifique de ^{15}N est déterminée par spectrométrie de masse alors que l'évaluation de l'activité spécifique du ^{33}P nécessite à la fois une mesure de radioactivité (hautement sensible) et une mesure chimique de concentration de phosphate peu sensible (Labry 1997). Par conséquent, si ces méthodes donnent des résultats satisfaisants en milieu riches en phosphate avec de longs temps de turnover du phosphore (Taft et al. 1975), elles ne sont pas applicables dans la plupart des milieux déficients en phosphate (Ammerman 1993).

Protocole utilisé

Les cinétiques d'assimilation du phosphate sont déterminées dans notre étude à l'aide du radiotracteur $^{33}\text{P-PO}_4^{3-}$, en suivant l'apparition de radioactivité dans les microorganismes retenus sur un filtre. Une étude méthodologique préliminaire à ce travail dans les eaux d'un marais maritime atlantique (site expérimental du CREMA à L'Houmeau) avait privilégié les filtres en esters de cellulose (Millipore) de $0,22\ \mu\text{m}$ pour mesurer l'activité totale de la communauté planctonique par rapport à d'autres filtres de $25\ \text{mm}$ de diamètre (GF/F, Nuclepore $0,2\ \mu\text{m}$, Anopore $0,2\ \mu\text{m}$) sur des critères de temps de filtration, de blanc de filtre et de maximum de radioactivité d'origine biologique retenue (Labry 1997). Par ailleurs, la quantité de formaldéhyde nécessaire à l'arrêt de toute activité biologique a également été testée et la teneur de 2 % vol:vol d'une solution aqueuse à 36 % a été retenue.

En 1998, des mesures d'incorporation de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ sont réalisées en parallèle avec la mesure de la production primaire (même niveaux de profondeur) par des incubations *in situ* pendant toute la durée d'ensoleillement du jour en janvier et début mars (Cf. page 41) et de 7 h à 13 h en juin. $5\ \mu\text{Ci}$ de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ ($> 4000\ \text{Ci}\ \text{mmol}^{-1}$, $< 4\ \text{pM}$ en concentration finale) exempt de phosphate non marqué sont ajoutés à 300 ml d'eau de mer dans des flacons en polycarbonate. Les contrôles sont préparés par l'addition de 6 ml de formaldéhyde à T_0 . Les échantillons et les contrôles (à T_0) sont filtrés (50 ml) en triplicata sur des filtres en esters de cellulose (Millipore) de $0,22\ \mu\text{m}$ ou polycarbonate (Nuclepore) de $1\ \mu\text{m}$ en utilisant une faible pression ($< 0,15\ \text{bar}$). Tous les filtres sont rincés avec 5 ml d'eau de mer filtrée ($< 0,2\ \mu\text{m}$). La quantité de radioactivité initialement introduite est mesurée en triplicata à partir des flacons, immédiatement après l'ajout de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$. Par ailleurs, les filtrats et l'eau de rinçage sont systématiquement recueillis et échantillonnés pour évaluer leur radioactivité et réaliser un bilan de radioactivité.

En 1999, les incubations sont réalisées à bord en échantillonnant un niveau de profondeur représentatif de la couche de mélange, à température *in situ* et lumière incidente *in situ* (PLAGIA 1, 6) ou 40 % de la lumière incidente (PLAGIA 2, 3). La méthode utilisée dérive de celle de Thingstad et al. (1993). 5 μCi d'une solution de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ ($> 4000 \text{ Ci mmol}^{-1}$, $< 125 \text{ pM}$ en concentration finale) sont ajoutés à 10 ml d'échantillon. Des essais préliminaires de confinement réalisés dans les eaux d'un marais maritime n'ont pas montré de différence entre l'incubation de 10 ml d'échantillon et l'incubation d'un litre d'échantillon auquel on prélève 10 ml à filtrer. Après 8, 15, 30, 45 minutes et 1, 2, 4, 6, 12, 24 h d'incubation, l'assimilation de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ est arrêtée par l'addition de 100 μl d'une solution de KH_2PO_4 (0,1 mM en concentration finale) et de 200 μl de formaldéhyde filtré (0,2 μm). Les contrôles sont préparés par addition de KH_2PO_4 et de formaldéhyde à T_0 . La quantité de radioactivité initialement introduite est mesurée en triplicata à partir de la solution de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$. Les échantillons sont filtrés à l'aide d'un dispositif Millipore comprenant 12 postes de filtration sur les mêmes types de filtre qu'en 1998 mais placés sur des filtres support (GF/F) saturés avec une solution de KH_2PO_4 , et en utilisant une faible pression ($< 0,15 \text{ bar}$).

En 1998 et 1999, les filtres sont séchés pendant 24 heures puis stockés dans des fioles à scintillation avec 4 ml de liquide scintillant jusqu'à ce que leur radioactivité soit comptée au laboratoire à l'aide d'un compteur Tri-Carb modèle 1500 (Packard).

Calcul du temps de turnover du phosphate

En 1998, le bilan de la radioactivité recueillie (filtre 0,22 μm , filtrat, filtrat de rinçage) atteint $98 \pm 7 \%$ ($n = 343$) de la radioactivité initialement introduite. Les blancs de filtre 0,22 μm ne représentent en 1998 et 1999 que respectivement $5 \pm 5 \%$ ($n = 170$) et $2 \pm 2 \%$ ($n = 23$) de la radioactivité initialement introduite.

En début mars et juin 1998, les durées d'incubation *in situ* sont trop longues par rapport au temps de turnover du phosphate supposé dans de telles conditions. Elles sont telles qu'à la fin de l'incubation, dans la couche de mélange, les cinétiques d'assimilation du $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ sont en phase de saturation. Dans ces conditions on ne peut déterminer que la limite supérieure du temps de turnover du phosphate (T_n) en divisant le produit de la radioactivité initialement introduite et du temps d'incubation par la radioactivité du filtre 0,22 μm à la fin de l'incubation (contrôle soustrait). Le radiotraceur incorporé dans la fraction de taille 0,2-1 μm

est calculé par différence entre la radioactivité du filtre 0,22 μm (contrôle soustrait) et celle du filtre 1 μm (contrôle soustrait) à la fin de la durée d'incubation.

En 1999 les cinétiques d'assimilation au cours du temps ont permis de mesurer le temps de turnover exact du phosphate. Selon Thingstad et al. (1993) et initialement Sheppard (1962), la fraction assimilée $R(t)$ de traceur ajouté est reliée au temps de turnover du phosphate par l'expression théorique : $R(t) = (1 - e^{-t/T_n})$ qui peut être réarrangée ainsi : $-\ln [1 - R(t)] = t/T_n$. La pente initiale de cette relation ($1/T_n$) est déterminée par régression linéaire selon le critère des moindres carrés. Les contributions des fractions de taille 0,2-1 μm et $> 1 \mu\text{m}$ à l'assimilation totale sont calculées comme la moyenne de leur contribution durant la phase linéaire de l'assimilation.

1.5.1.2. Paramètres cinétiques de l'assimilation du phosphate

Les paramètres cinétiques de l'assimilation du phosphate sont déterminés selon le protocole de Thingstad et al. (1993). Par rapport à la mesure de l'assimilation il y a addition supplémentaire de 25 à 100 μl de solutions différentes de $^{31}\text{P-KH}_2\text{PO}_4$ à 10 ml d'échantillon pour obtenir des concentrations finales de phosphate froid (S_a) de 25, 50, 75, 100, 200, 400, 800, 1250, 2500 et 5000 nM. Les temps d'incubation ont varié de 1 à 6 heures selon la concentration de phosphate ajouté et dans les mêmes conditions d'incubation que pour la mesure de l'assimilation. La vitesse d'assimilation du phosphate (V_{po_4}) est calculée en divisant la concentration de phosphate ajouté par le temps de turnover déterminé par l'expression décrite ci-dessus ($V_{\text{po}_4} = S_a/T_n$). La concentration réelle naturelle de phosphate (S_n) n'étant pas déterminée car inférieure à la limite de détection de la méthode chimique classique, la constante de demi-saturation de l'assimilation (K_t) ne peut être évaluée séparément de S_n . Les paramètres cinétiques $K_t + S_n$ et V_m (vitesse maximale) sont déterminés par régression non linéaire selon le critère des moindres carrés de la relation $V_{\text{po}_4} = f(S_a)$ ajustée à l'équation de Michaelis & Menten, et en utilisant l'algorithme de Marquardt-Levenberg (Brooks 1992).

1.5.1.3. Régénération du phosphore

Méthodes existantes

Les méthodes estiment la régénération du phosphore par l'ensemble de la communauté planctonique et simultanément par certaines classes de taille séparées par filtration (Dolan et al. 1995, Hudson & Taylor 1996, Thingstad et al. 1996a) ou bien par une seule catégorie d'organismes comme le zooplancton (Pomeroy et al. 1963, Taylor & Lean 1991) ou encore par des espèces isolées du phytoplancton (Kuenzler 1970, Lean & Nalewajko 1976), des bactéries (Jansson 1993), du microzooplancton (Jürgens & Güde 1990, Allali et al. 1994, Eccleston-Parry & Leadbeater 1995) ou du mésozooplancton (Lehman 1980, Taylor 1984, Vadstein et al. 1995). Ces méthodes englobent généralement la **régénération du phosphore sous forme inorganique et sous forme organique** et certaines évaluent ensuite la part de ces deux formes par séparation chimique (Peters & Lean 1973, Taylor & Lean 1981). La mesure de l'activité des phosphatases (phosphatases alcalines, 5'-nucléotidases...) renseigne, elle, sur la capacité de **régénération du phosphate** d'un écosystème à partir du POD (Tamminen 1989, Ammerman 1991, Ammerman & Azam 1991b), ce qui constitue une partie de la régénération du phosphore.

La régénération du phosphore de l'ensemble de la communauté planctonique peut être mesurée par des méthodes de dilution isotopique (Harrison 1983) qui ne sont pas applicables en milieu déficient en phosphate. Lean & White (1983) l'estiment par différence entre l'assimilation brute mesurée par méthode radioisotopique et l'assimilation nette évaluée par l'évolution de la concentration de phosphate. La méthode de Dodds et al. (1991) est basée sur l'utilisation d'antibiotique mais leur action n'est pas toujours efficace et cette méthode est peu employée. Les méthodes globales classiques consistent (1) à marquer à l'aide de $^{32}\text{PO}_4^{3-}$ ou $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ les communautés planctoniques jusqu'à atteindre un équilibre isotopique entre elles et le milieu, (2) à arrêter l'assimilation de $^{32}\text{PO}_4^{3-}$ ou $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ restant en solution ou la réassimilation de ^{32}P ou ^{33}P recyclé par ajout de $^{31}\text{PO}_4^{3-}$ puis (3) à suivre au cours du temps la diminution de radiotraceur de la fraction particulaire (Dolan et al. 1995, Thingstad et al. 1996a) ou son augmentation dans la phase dissoute (Hudson & Taylor 1996).

Protocole utilisé

Nous avons utilisé la méthode de Dolan et al. (1995) et Thingstad et al. (1996a). Les populations naturelles (2 échantillons d'un litre dans des flacons en polycarbonate) sont d'abord marquées au ^{33}P ($150 \mu\text{Ci l}^{-1}$ de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$) pendant 24 heures. L'incubation est réalisée dans les mêmes conditions que pour la mesure de l'assimilation. Dans un deuxième temps, 0,1 mM KH_2PO_4 en concentration finale est ajoutée à un des flacons. Périodiquement pendant le marquage (1, 3, 6, 12, 24 h) et après l'addition de phosphate froid (1, 3, 6, 9, 12, 24 h), 10 ml d'échantillon sont prélevés et immédiatement filtrés sur 0,22 μm et 1 μm . Les filtrats sont échantillonnés pour évaluer le ^{33}P dissous. Un contrôle est préparé par addition de formaldéhyde à 10 ml d'échantillon prélevés à T_0 . Le pourcentage de traceur ajouté incorporé dans les microorganismes est exprimé en fonction du temps d'incubation après l'ajout de phosphate froid et le taux de régénération est calculé par régression linéaire selon le critère des moindres carrés.

1.5.2. Activités des phosphatases alcalines

Méthodes existantes

Le principe de la mesure de l'hydrolyse enzymatique des composés organiques dissous du phosphore consiste à introduire dans l'échantillon un substrat potentiel des enzymes impliquées et à détecter au cours du temps son produit d'hydrolyse par l'enzyme. C'est la technique de détection du substrat qui diffère entre les méthodes utilisées. L'hydrolyse enzymatique est mesurée depuis longtemps par des méthodes spectrophotométriques (Fitzgerald & Nelson 1966, Reichardt et al. 1967, Berman 1969, 1970) ou par des méthodes fluorimétriques (Perry 1972, Taft et al. 1977) et plus récemment par des méthodes radioisotopiques (Ammerman & Azam 1985, Tamminen 1989, Bentzen & Taylor 1991, Thingstad et al. 1993). De nouvelles procédures fluorimétriques se sont développées comme la lecture de fluorescence sur microplaque (Hoppe 1993, Sinsabaugh et al. 1997, Foreman et al. 1998) ou la mesure de l'activité au niveau spécifique et cellulaire par l'utilisation de substrat fluorogénique insoluble au site de l'enzyme, détectable par microscopie à épifluorescence et mesurable par cytométrie en flux (Gonzalez-Gil et al. 1998, Rengefors et al. 2000). Enfin, Ammerman & Glover (2000) ont mis au point la mesure en continu de l'activité ectoenzymatique par fluorimétrie, validée pour les phosphatases alcalines.

L'hétérogénéité des méthodes utilisées rend la comparaison des résultats délicate. Les méthodes radioisotopiques présentent les avantages de mesurer à la fois l'hydrolyse et l'assimilation couplée du phosphate libéré, d'être hautement sensible (substrat à l'état de traceur) et d'utiliser des substrats réels (e.g. ATP, glucose-6-phosphate,...). Toutefois, ces substrats sont très spécifiques de certaines enzymes et leur utilisation est incapable de rendre compte de l'activité de toutes les phosphatases alcalines potentiellement présentes chez les microorganismes. Les méthodes spectrophotométriques ou fluorimétriques plus simples et plus rapides ont le désavantage d'utiliser des substrats artificiels. Ils ont la propriété, après action des enzymes, soit d'absorber certaines longueurs d'onde soit de fluorescer suite à une excitation. L'activité obtenue par ces méthodes ne sera nécessairement pas la même que celle mesurée avec les substrats naturels. Toutefois ces substrats analogues sont choisis parmi les moins sélectifs possibles pour estimer l'activité de toute une classe d'enzymes. Si l'on ne connaît pas la représentativité de ces substrats analogues vis à vis des composés naturels, l'inhibition compétitive de leur hydrolyse par des substrats naturels montrée par Hoppe (1983) suggère que l'activité enzymatique mesurée par ces méthodes est le reflet de processus naturels. Les fortes corrélations déjà observées avec certains paramètres microbiologiques confortent également leur utilisation.

La mesure de l'activité enzymatique à l'aide de substrats analogues chromogènes tels que le p-nitrophényl phosphate (très utilisé) ou le phénolphtaléine phosphate, a beaucoup été pratiquée (Rivkin & Swift 1980, Huber & Kidby 1984, Gambin et al. 1999) mais elle présente le désavantage d'être assez peu sensible (Pettersson & Jansson 1978, Chrost & Krambeck 1986) même si, pour compenser, certains auteurs concentrent le matériel particulière (Berman et al. 1990). Par conséquent, elle n'est pas adaptée à l'étude de milieux oligotrophes (Perry 1972) et de plus elle nécessite de longs temps d'incubation, augmentant les risques de contamination (Pettersson & Jansson 1978, Chrost et al. 1984, Siuda & Chrost 1987). Les méthodes fluorimétriques sont au contraire très sensibles comme cela a été montré à la fois pour le 3-O-méthylfluorescéine phosphate et le méthylumbelliféryl phosphate (MUF-P) (Pettersson & Jansson 1978, Hoppe 1983).

Deux stratégies peuvent être envisagées pour la mesure de l'activité des phosphatases alcalines. D'une part, le substrat peut être utilisé à de faibles concentrations et est alors à l'état supposé de traceur. D'autre part, il peut être utilisé à des concentrations saturantes pour les

enzymes et la mesure représente alors le potentiel enzymatique des populations planctoniques. Dans le premier cas, le phosphate présent dans l'eau à des concentrations plus ou moins importantes ainsi que les substrats naturels peuvent agir comme des inhibiteurs compétitifs et diminuer sévèrement l'activité mesurée. De plus la concentration choisie sera déterminante sur la valeur de la vitesse d'hydrolyse, celle-ci variant très rapidement aux faibles concentrations (partie quasi linéaire de la courbe de Michaelis & Menten). L'utilisation de concentrations saturantes de substrat permet de pallier à la fois aux problèmes d'inhibition et de variation de l'activité aux faibles concentrations. Elle constitue la méthode la plus consensuelle permettant de comparer les résultats obtenus au cours de différentes investigations (études de profil d'activité, études spatiotemporelles, études de milieux différents...). D'après Pettersson & Jansson (1978), le 3-O-méthylfluorescéine phosphate ne peut être utilisé qu'à de faibles concentrations, comme dans la méthode de Perry (1972), afin de diminuer la fluorescence résiduelle de ce substrat et d'augmenter la sensibilité de la mesure. Le MUF-P ne présente pas ce désavantage et constitue le substrat le plus adapté (Pettersson & Jansson 1978, Hoppe 1983, Ammerman 1993).

Protocole utilisé

Pour leurs caractéristiques de non spécificité du substrat et de sensibilité au phosphate, nous avons choisi de mesurer l'activité des phosphatases alcalines (APA) dans les eaux du panache de la Gironde afin d'évaluer les potentialités d'utilisation du POD comme source de phosphore. Pour détecter cette activité, nous avons choisi la méthode fluorimétrique utilisant le MUF-P comme substrat de l'enzyme. D'une part, nous avons utilisé ce substrat en concentration saturante (250 μM) aux différents niveaux de profondeurs sélectionnés au cours des stations fixes. D'autre part, nous avons déterminé les paramètres cinétiques (V_m , K_m) de l'hydrolyse sur des échantillons représentatifs de la couche de mélange en utilisant les concentrations finales de substrat de 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 63, 125 et 250 μM . Par ailleurs, nous avons mesuré l'activité phosphatasique dans les fractions de taille phytoplanctonique ($> 1 \mu\text{m}$), bactérienne (0,2-1 μm) et dissoute ($< 0,2 \mu\text{m}$) par préfiltration (Hoppe 1983, Ammerman 1993), ce qui nécessite moins de manipulations que la concentration du matériel particulaire telle qu'elle est pratiquée par certains (Chrost & Overbeck 1987, Berman et al. 1990).

La solution mère de MUF-P (Sigma) est obtenue par sa dissolution dans un mélange 1/3 métoxy-2/3 d'eau MilliQ. Les solutions filles sont préparées par dilution dans l'eau MilliQ et conservées à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. 2 ml d'échantillon d'eau totale ou préfiltrée sur des filtres en polycarbonate (Nuclepore) de $0,2\text{ }\mu\text{m}$ ou $1\text{ }\mu\text{m}$ sont incubés en duplicata avec $50\text{ }\mu\text{l}$ of solution de substrat. Dans le contrôle, $450\text{ }\mu\text{l}$ de formaldéhyde tamponné (4 %, pH 8) et préfiltré ($< 0,2\text{ }\mu\text{m}$) sont ajoutés à T_0 avant l'addition de substrat. Les échantillons et le contrôle sont incubés à l'obscurité à température *in situ* pendant approximativement 10 heures. A la fin de l'incubation, la réaction dans l'échantillon est arrêtée par l'addition de formaldéhyde et les échantillons sont congelés ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Des tests préliminaires réalisés dans le panache girondin ont montré la linéarité de l'activité sur 24 heures et l'effet inhibiteur du formaldéhyde à 4 % sur cette activité. Cela permet la conservation des échantillons sans modification des valeurs de K_m ni de V_m , ce qui présente un avantage lors des embarquements.

La fluorescence produite par le méthylumbelliféron (MUF) est mesurée (excitation à 365 nm et émission à 460 nm) à l'aide d'un système d'analyse en flux continu comprenant une pompe (Kontron, modèle 414), une valve d'injection (Rheodyne, modèle 7010) et un spectrofluorimètre (Kontron, modèle SFM 25) (Delmas et al. 1994). Une solution de tampon borate (0,1 M, pH 10,5) pompée à un débit de 1 ml min^{-1} transporte l'échantillon injecté ($50\text{ }\mu\text{l}$) de la vanne à injection au spectrofluorimètre. En effet, si l'incubation des échantillons est réalisée au pH naturel, la mesure de la fluorescence du MUF est réalisée à pH alcalin car sa fluorescence est maximale dans ces conditions (Hoppe 1983, Chrost & Krambeck 1986). Cela évite les variations très importantes de la fluorescence en fonction du pH pour des valeurs comprises entre 7 et 9 correspondant aux pH de la plupart des milieux naturels (Chrost & Krambeck 1986) et permet d'obtenir une conformité entre les différentes études réalisées. La détection est calibrée par des mesures de fluorescence de solutions de MUF (2 nM à $2\text{ }\mu\text{M}$) préparées dans les mêmes conditions que les échantillons (même dilution et même quantité de formaldéhyde) et en utilisant le même tampon. La fluorescence totale du contrôle, correspondant à la fluorescence résiduelle de l'eau et du substrat (MUF-P) est soustraite de celle de l'échantillon (Ammerman 1993). L'activité des phosphatases alcalines est exprimée en terme de vitesse d'hydrolyse du MUF-P en nM h^{-1} . Les paramètres cinétiques sont déterminés par régression non linéaire selon le critère des moindres carrés de la relation activité versus concentration de substrat ajustée à l'équation de Michaelis & Menten, et en

utilisant l'algorithme de Marquardt-Levenberg (Brooks 1992). Le temps de turnover du MUF-P est estimé par le rapport K_m/V_m (Wright & Hobbie 1966).

L'activité phosphatasique phytoplanctonique (fraction de taille $> 1 \mu\text{m}$) est calculée en soustrayant l'activité inférieure à $1 \mu\text{m}$ à l'activité totale. L'activité bactérienne (classe de taille $0,2-1 \mu\text{m}$) est obtenue par soustraction de l'APA inférieure à $0,2 \mu\text{m}$ à l'activité inférieure à $1 \mu\text{m}$. Les activités spécifiques phytoplanctoniques sont évaluées par division de l'APA dans la fraction supérieure à $1 \mu\text{m}$ par le carbone phytoplanctonique estimé à partir des concentrations de chl *a* en utilisant le rapport C:chl *a* de 50:1. Les activités spécifiques bactériennes sont évaluées en divisant l'APA comprise entre $0,2$ et $1 \mu\text{m}$ par le carbone bactérien estimé à partir du nombre de bactéries, en supposant un contenu cellulaire en carbone de 16 fg C .

1.5.3. Production primaire

La fixation photosynthétique du carbone est mesurée par la méthode au ^{14}C (Steehan-Nielsen 1952). La solution fille de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ ($10 \mu\text{Ci ml}^{-1}$) est préparée au laboratoire à partir de la solution mère ($30-60 \text{ mCi mmol}^{-1}$, 1 mCi ml^{-1}) avec de l'eau de mer du large préfiltrée sur Whatman GF/F et dont le pH est ajusté à 9,5 puis elle est répartie en plusieurs fioles de manière à décongeler une seule dose par station fixe.

En 1998, la production primaire est mesurée par des incubations *in situ* de 300 ml d'eau de mer (flacons translucides en polycarbonate) avec $10 \mu\text{Ci}$ de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ du lever au coucher du soleil (9-17 h à BIOMET 2, 9-18 h à BIOMET 3 et 7-21 h à PEGASE) et à l'aide d'un système dérivant équipé d'une bouée de repérage (ligne de production primaire). En 1999, la production primaire potentielle est mesurée par incubation de 300 ml d'eau de mer avec $20 \mu\text{Ci}$ de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ pendant 2 h à température *in situ* et à un niveau saturant en lumière d'approximativement $1660 \mu\text{Einst m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. La production totale est évaluée par filtration sur des filtres Whatman GF/F et des filtrations différentielles sont réalisées à l'aide de tamis en nylon de $20 \mu\text{m}$ et de filtres en polycarbonate (Nuclepore) de $3 \mu\text{m}$. Les filtres sont placés dans des flacons à scintillation et imbibés avec $200 \mu\text{l}$ de HCl 1 N pour éliminer le ^{14}C minéral dissous contenu dans l'eau adsorbée sur le filtre (Lean & Burnisson 1979). Les filtres sont séchés à $60 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 24 h puis recouverts de 4 ml de liquide scintillant. La quantité de

radioactivité introduite est mesurée en prélevant 200 µl immédiatement après ajout du radiotraceur et placés dans une fiole à scintillation à laquelle on a ajouté 100 µl d'éthanolamine et 4 ml de liquide scintillant. Des filtrations sont réalisées immédiatement après inoculation (T_0) pour soustraire l'adsorption non biologique du ^{14}C sur les particules et sur le filtre. La radioactivité est comptée au laboratoire.

La production primaire particulaire mesurée (PP) est le résultat de la production primaire brute réalisée par les microorganismes photosynthétiques dont une part inconnue a été utilisée par la respiration de la communauté planctonique (phytoplancton, zooplancton) et une part a été excrétée puis éventuellement respirée par les bactéries. En 1998, avec des temps d'incubation de la journée solaire, notre mesure doit être intermédiaire entre une production brute et la production nette de la communauté planctonique, les parts de $^{14}\text{C-HCO}_3^-$ initialement introduit, respiré ou excrété n'ayant pas été évaluées. En 1999, nous avons probablement mesuré une production primaire potentielle brute si l'on considère qu'en 2 heures d'incubation les processus de respiration et d'excrétion du ^{14}C sont négligeables.

$$PP = (R_T - R_0) \times [\text{Cinorg}] / (Q \times T)$$

R_T : radioactivité (dpm) du filtre après incubation pendant la durée d'ensoleillement du jour

R_0 : radioactivité (dpm) du filtre à T_0 correspondant à l'adsorption non biologique du ^{14}C sur le filtre et les particules.

Q : quantité introduite dans le volume filtré

[Cinorg] : teneur en carbone inorganique de l'eau de mer (supposée égale à $27 \times 10^3 \text{ mgC m}^{-3}$)

T : durée d'incubation

1.5.4. Paramètres photosynthétiques

Les paramètres photosynthétiques (paramètre de saturation de la lumière E_k et activité photosynthétique maximale P_m^* , Talling 1957, Sakshaug et al. 1997) sont mesurés pour quelques stations à BIOMET 3 et à PEGASE respectivement à 14 h et 16 h. La méthode dérive de la procédure à faible volume et court temps d'incubation de Lewis & Smith (1983) : 5 ml d'eau de mer introduits dans des fioles à scintillation en verre translucide (20 ml) sont marqués avec 2 µCi de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ ($\sim 1,5 \times 10^4 \text{ Bq ml}^{-1}$). 24 échantillons sont incubés pendant 30 minutes dans un « photosynthétron » sous un gradient de lumière de 1 à 1600 µEinst $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

¹. La température est régulée et fixée pour chaque expérience à la température *in situ*. Les échantillons sont ensuite fixés au formaldéhyde, agités dans un courant d'air après addition de 100 µl de HCl (2 N), puis stockés à l'obscurité jusqu'à ce que leur radioactivité soit comptée au laboratoire. Les activités photosynthétiques (P) obtenues sont normalisées en divisant par la concentration initiale de chl *a* (P^*). Les paramètres photosynthétiques sont déterminés par régression non linéaire selon le critère des moindres carrés de la relation P^* versus irradiance (E) ajustée à l'équation de type tangente hyperbolique de Jassby & Platt (1976) ($P^* = P_m^* \times \tanh(\alpha^* \times E/P_m^*)$). α^* est le coefficient d'utilisation maximale de la lumière (Sakshaug et al. 1997), la pente initiale de la courbe P^* vs E aux très faibles éclairagements. E_k est estimé par le rapport P_m^*/α^* (Sakshaug et al. 1997).

1.5.5. Production bactérienne

La production bactérienne est estimée par la méthode d'incorporation de ³H-méthyl-thymidine (Fuhrman & Azam 1982). Des triplicata d'échantillon (20 ml) et un contrôle (acide trichloroacétique TCA à 5 % en concentration finale) sont incubés avec 20 nM (concentration finale) de thymidine (50 Ci mmol⁻¹) à l'obscurité et à température *in situ* pendant 30 min à 1 h. L'addition de TCA à 5 % en concentration finale permet d'arrêter l'incorporation puis l'ADN bactérien est précipité à 0 °C pendant 30 min et enfin l'échantillon est filtré sur des filtres en polycarbonate (Nuclepore) de 0,2 µm. Les filtres sont placés dans des fioles à scintillation liquide auxquels on ajoute 4 ml de liquide scintillant pour être comptés ultérieurement au laboratoire. Le taux d'incorporation de thymidine dans l'ADN est converti en terme de production de cellules en utilisant le facteur de 2,18 x 10¹⁸ cellules produites par mole de thymidine incorporée (Fuhrman & Azam 1982), puis elle est convertie en production de carbone bactérien en supposant un contenu cellulaire de 16 fg C.

1.6. Expériences d'enrichissement

Pour évaluer la limitation en phosphore des populations planctoniques nous avons conduit des expériences d'enrichissement en phosphate à bord du bateau en 1999 à la fois pour une eau typique du panache (salinité S < 34,5) et pour une eau plus océanique (S > 34,5). Mi-juillet, deux eaux typiques du panache ont été enrichies, l'une d'une salinité de 33,9 (G1) et l'autre

d'une salinité de 34,4 (G2). Des échantillons d'eau non tamisée sont préparés ainsi que des échantillons d'eau tamisée sur 1 μm afin d'éliminer la majeure partie des prédateurs des bactéries dont la rapidité de croissance pourrait masquer la réponse bactérienne en terme de biomasse à l'enrichissement. Un enrichissement supplémentaire en azote est réalisé mi-juillet 1999 (PLAGIA 5) sous forme d'ammonium. Cet enrichissement est un indice de limitation potentielle en azote à cette période, l'ammonium étant la forme d'azote la plus facilement assimilable car peu coûteuse en énergie (Slawyk 1980). Il n'est pas le reflet d'un enrichissement réel, les apports en azote par les eaux de la Gironde étant essentiellement sous forme de nitrate.

Pour chaque type d'eau, l'eau de mer prélevée à l'aide d'une bouteille en PVC Niskin de 30 litres à une profondeur représentative de la couche de mélange est distribuée de manière homogène entre deux bonbonnes en polycarbonate de 25 litres. Elle est préfiltrée à PLAGIA 3, 5 et 6 sur un tamis de 100 μm pour enlever les organismes planctoniques de grande taille. Environ 0,6 μM de KH_2PO_4 en concentration finale sont ajoutés à une bonbonne, ce qui correspond approximativement, d'après les résultats de la campagne BIOMET 2, à l'enrichissement en phosphate hivernal des eaux du panache pour une salinité de 32. L'autre bonbonne sert de contrôle. L'enrichissement en azote est réalisé par addition de 9 μM de NH_4Cl en concentration finale, seul ou combiné avec l'addition de phosphate selon un rapport d'enrichissement N:P de 15 (at:at) environ.

Les incubations sont réalisées dans un incubateur embarqué, à température *in situ* et à 100 % (PLAGIA 1, 6) ou 40 % (PLAGIA 2, 3, 5) de lumière incidente. Les temps de prélèvement de sous-échantillons sont déterminés grâce aux résultats immédiats de mesure de la fluorescence *in vivo*. Les paramètres suivants sont mesurés : sels nutritifs (phosphate à bord), chl *a*, production primaire potentielle et leur fractionnement par classes de taille, biomasse bactérienne, production bactérienne, activité phosphatasique.

Pour les échantillons tamisés, l'eau de mer prélevée est préfiltrée sur des filtres en polycarbonate de 1 μm et cet inoculum est dilué avec de l'eau de mer filtrée sur 0,2 μm selon un rapport de dilution de 1/5 et pour un volume final de 2 litres. Les enrichissements sont identiques à ceux des bonbonnes. Les incubations sont réalisées à température *in situ* à l'obscurité. Seule la biomasse bactérienne est estimée sur les sous-échantillons prélevés.

1.7. Séparation des populations algales et bactériennes

Dans le cadre de l'étude de la dynamique du phosphore, la compétition entre les algues et les bactéries est déterminante pour l'acquisition du phosphore. C'est pourquoi une séparation différentielle des communautés algales et bactériennes est systématiquement réalisée au cours des mesures d'assimilation du phosphate, de régénération du phosphore et d'activité phosphatasique, par postfiltration pour les premières et par préfiltration pour la dernière. Le choix des seuils de coupure s'est arrêté à 0,2 et 1 μm .

Si la biomasse et la production des bactéries et des algues n'ont pas été systématiquement déterminées dans les fractions respectives $> 1 \mu\text{m}$ et 0,2-1 μm , plusieurs indices suggèrent que ce fractionnement de taille sépare de façon adéquate la majorité des bactéries de la majorité des algues dans les eaux du panache de salinité inférieure à 34,5. La fraction supérieure à 1 μm représente effectivement la plupart des algues d'après une faible contribution de la chl *a* inférieure à 1 μm mesurée en juin 1998 (15 %) et aux stations fixes des campagnes de 1999 (moins de 10 %). En revanche, la présence de bactéries attachées dans la fraction supérieure à 1 μm pourrait être importante en terme de biomasse et de production. Les cellules bactériennes retenues sur 1 μm , énumérées en fin février 1999 uniquement, représentaient 3 % seulement de la biomasse totale. Toutefois, cette contribution a pu évoluer au cours de l'année. Des études conduites par Artigas (1997) dans le panache de la Gironde montrent que la majorité des bactéries attachées représente moins de 20 % de la biomasse bactérienne totale de mars à mai 1992, de mars à juin 1993, en mai 1994 et en mai 1995 et que la production de ces bactéries représente moins de 10 % de la production totale en mai 1994. Par conséquent comme cela a déjà été observé en eaux côtières, océaniques (Alldredge et al. 1986) et en eaux douces (Middelboe et al. 1995), la contribution des bactéries attachées à la biomasse et à la production totales est faible. On suppose qu'il en est de même pour leur capacité d'assimilation des phosphates. Ainsi, l'ensemble de ces indices suggère que la fraction supérieure à 1 μm est essentiellement d'origine phytoplanctonique et la fraction 0,2-1 μm représente la majorité des bactéries sur toute la période étudiée. Pour ce qui est du fractionnement de l'activité phosphatasique, l'importance de l'activité enzymatique cellulaire spécifique des bactéries attachées et l'éventuelle contribution des protozoaires à l'APA de la fraction supérieure à 1 μm sont discutées dans le chapitre 4.

Dans les eaux « océaniques » telles que nous les avons définies dans le chapitre 3 c'est à dire de salinité supérieure à 34,5, les investigations d'Artigas (1997) sur le plateau continental Sud Gascogne dans le même type d'eau laisse supposer la faible importance des bactéries attachées. En revanche, des teneurs non négligeables de chl *a* dans la fraction inférieure à 1 μm (~40 %) ont été mesurées en juin 1998, fin mai et début octobre 1999. L'assimilation bactérienne et algale des phosphates ont alors été calculées en tenant compte de ce picophytoplancton et en supposant que le fractionnement de la chl *a* reflète celui de l'assimilation algale des phosphates.

Enfin, la séparation des populations algales entre elles par filtrations différentielles de la chl *a* et de la production primaire (3 μm , 20 μm) sont réalisées dans le but d'évaluer l'importance relative des biomasses microplanctoniques (> 20 μm), nanoplanctoniques (3-20 μm) et picoplanctoniques (~0,7-3 μm) dans le panache de la Gironde (Sieburth et al. 1978) et d'étudier ainsi l'évolution saisonnière de ces différentes classes de microorganismes.

1.8. Rendons à César...

Les mesures hydrologiques ont été effectuées par les collaborateurs du PNOG, Pascal Lazure, Anne Marie Jegou (laboratoire Applications Opérationnelles de l'IFREMER/Brest), Catherine Thomas (Département de Géologie et d'Océanographie, DGO, de l'Université Bordeaux I) ou par les collaborateurs du PNDR, Paul Bourriau, Daniel Halgand et Patrick Grellier (laboratoire Ecologie Halieutique de l'IFREMER/Nantes). Les simulations du modèle hydrodynamique 3D et les images SeaWiFS ont été mises gracieusement à notre disposition par respectivement P. Lazure, A.M. Jegou et par Jean Marie Froidefond (DGO). Ce dernier nous a également transmis les données de matières en suspension qu'il a mesurées en janvier et début mars 1998 ainsi qu'en fin février, fin avril, fin juin et mi-juillet 1999.

Les autres mesures citées ci-dessous ont été réalisées par le personnel du CREMA. Les sels nutritifs déterminés à l'autoanalyseur Skalar, les espèces phytoplanctoniques en surface, le phosphore organique dissous et particulaire ont été analysés par Françoise Mornet. La biomasse bactérienne, le carbone et l'azote organique particulaire ont été analysés par respectivement Martine Breret et Lucette Joassard. Pierre Laborde (Laboratoire d'Océanographie Biologique, Université Bordeaux I) a réalisé les analyses de chlorophylle *a* de BIOMET 2 et 3 avec Alain Herbland. La production primaire et les paramètres

photosynthétiques (courbes P versus E) ont été mesurées par A. Herbland alors que la production bactérienne et l'activité phosphatase l'ont été par Daniel Delmas. Pour ma part, j'ai réalisé les analyses de phosphate à bord et de monoesters de phosphate au laboratoire, les mesures d'assimilation du phosphate, de détermination des paramètres cinétiques, de régénération du phosphore, la préparation des échantillons de POD et de POP ainsi que la majeure partie des analyses de chl *a*.

2. Déterminisme et récurrence des blooms hivernaux dans le panache de la Gironde

2.1. Blooms phytoplanctoniques hivernaux en 1998*

2.1.1. Objectifs

Les objectifs de cette étude sont (1) de montrer l'existence de blooms phytoplanctoniques hivernaux dans le panache de la Gironde, responsables d'un épuisement précoce en phosphate de la couche de mélange et (2) de comprendre les mécanismes qui les ont initiés. La mise en évidence et le déterminisme sont montrés à partir des résultats des campagnes BIOMET 2 et 3 (Fig. 2) qui ont eu lieu respectivement en janvier et début mars 1998.

2.1.2. Résultats

Nous avons distingué les eaux du panache les plus dessalées sous la dénomination de « panache turbide » ($S < 33$), du reste du panache dit « intermédiaire » ($33 < S < 35,5$) et des eaux océaniques atlantiques ($S > 35,5$).

2.1.2.1. Caractéristiques hydrologiques

Etendue spatiale du panache

En janvier, le panache de la Gironde s'étend au nord et le long de la côte avec des gradients horizontaux de salinité prononcés (Fig. 3). L'isohaline 35,5 séparant les eaux du panache et les eaux océaniques atlantiques correspond approximativement à l'isobathe de 50 m. En début mars, l'extension du panache est encore nord et le long de la côte avec toutefois des gradients horizontaux de salinité plus faibles et une extension un peu plus au large, l'isohaline 35,5 atteignant les eaux de 60 m de fonds (Fig. 3). Les faibles salinités au sud de l'île d'Yeu (Fig. 2, 3) correspondent à l'extension des eaux du panache de la Loire dans cette zone qui se mélangent avec celles du panache de la Gironde. A chaque période, les eaux du panache sont plus froides que les eaux océaniques (Fig. 3) (Castaing et al. 1999). Par ailleurs, les eaux sont

plus froides en début mars dans le panache (10,5-12 °C) et les eaux océaniques (12-12,5 °C) qu'en janvier (respectivement 11,5-12,5 °C et 12,5-13,5 °C), suite à un refroidissement général à partir de mi-février.

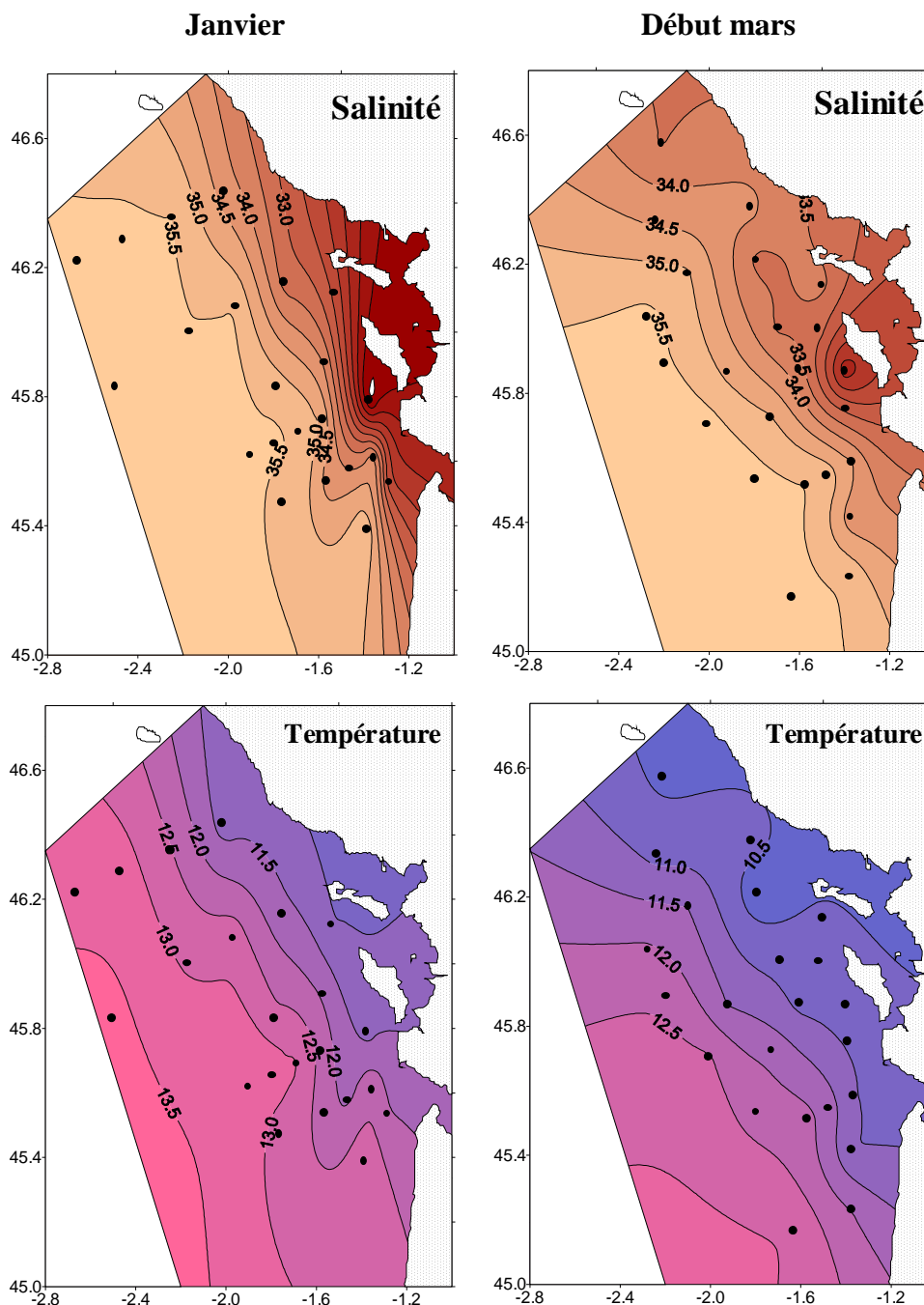


Fig. 3. Distribution spatiale de la salinité et la température (°C) de surface en janvier et début mars 1998

Distribution verticale de la salinité, de la température et de la densité

Les distributions verticales de la salinité, de la température et de la densité montrent de faibles différences dans la colonne d'eau en janvier sur toute la zone (typiquement moins de 0,5, 0,2 °C et 0,2 kg m⁻³) excepté à proximité du fond dans le panache (Station 19, Fig. 4).

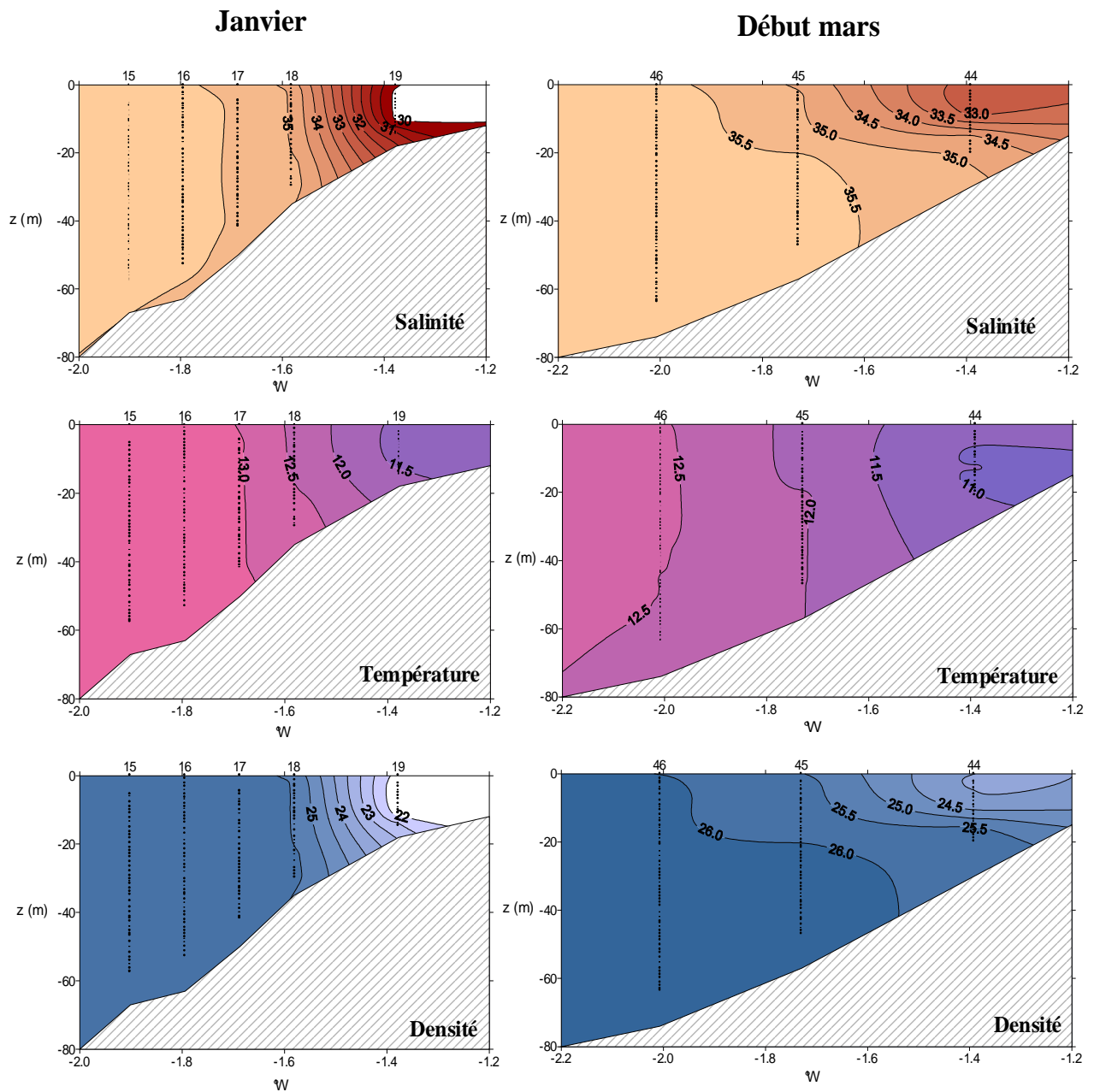


Fig. 4. Distribution verticale de la salinité, la température (°C) et la densité (kg m⁻³) en janvier et début mars 1998 le long des transects présentés en Fig. 2

Les tempêtes essayées en début janvier et au cours de BIOMET 2 avec des vents de vitesse supérieures à 25 m s⁻¹ ont favorisé le mélange vertical de la colonne d'eau. En début mars, les

différences de température sont encore assez faibles (moins d'un degré Celsius avec des eaux plus froides dans la couche de mélange qu'en dessous) mais une importante stratification haline s'est établie dans le panache intermédiaire avec des différences de salinité surface-fond atteignant 1,5 à 2, imposant des différences de densité jusqu'à $1,8 \text{ kg m}^{-3}$ (Fig. 4). Cette stratification haline isole une couche de mélange de 3 à 10 m de profondeur (z_m) avec une moyenne de 9 m (Tableau 3). Les eaux océaniques sont toujours homogènes en température et salinité (Fig. 4).

	Janvier				Début mars			
	K	z_e	z_m	Z_{cr}	K	z_e	z_m	Z_{cr}
P. turbide	$0,95 \pm 0,02$	$5 \pm 0,1$	15 ± 6	4 ± 1	-	-	-	-
S<33	(2)	(2)	(2)	(13)				
P. intermédiaire	$0,60 \pm 0,05$	7 ± 1	16 ± 4	7 ± 2	$0,19 \pm 0,03$	24 ± 5	9 ± 4	35 ± 10
33<S<35,5	(16)	(16)	(16)	(13)	(17)	(17)	(17)	(13)
Eaux océaniques	$0,29 \pm 0,02$	16 ± 1	> 50	13 ± 4	$0,14 \pm 0,05$	35 ± 10	> 60	47 ± 14
S>35,5	(2)	(2)	(2)	(13)	(4)	(4)	(4)	(13)

Tableau 3. Valeurs moyennes du coefficient d'atténuation verticale de la lumière K (m^{-1}), des profondeurs de la couche euphotique z_e (m) et de la couche de mélange z_m (m) et de la profondeur critique Z_{cr} (m) dans le panache (P.) turbide, intermédiaire et dans les eaux océaniques en janvier et début mars 1998. Les valeurs situées entre parenthèses correspondent aux nombres d'observation.

Coefficient d'atténuation verticale et profondeur de la couche euphotique

Les valeurs du coefficient d'atténuation verticale de la lumière (K) montrent une distribution spatiale prononcée avec un gradient négatif du panache turbide aux eaux océaniques à chaque période et elles sont corrélées (coefficient de corrélation linéaire de 0,971) aux concentrations de matières en suspension pour les deux périodes confondues (Tableau 3, Fig. 5). Les valeurs de K ont diminué entre janvier et début mars d'un facteur trois dans le panache intermédiaire (de $0,60$ à $0,19 \text{ m}^{-1}$) et de moitié dans les eaux océaniques (de $0,29$ à $0,14 \text{ m}^{-1}$), affectant la profondeur de la couche euphotique (z_e). Celle-ci, plus faible que z_m en janvier devient supérieure à z_m dans le panache intermédiaire en début mars.

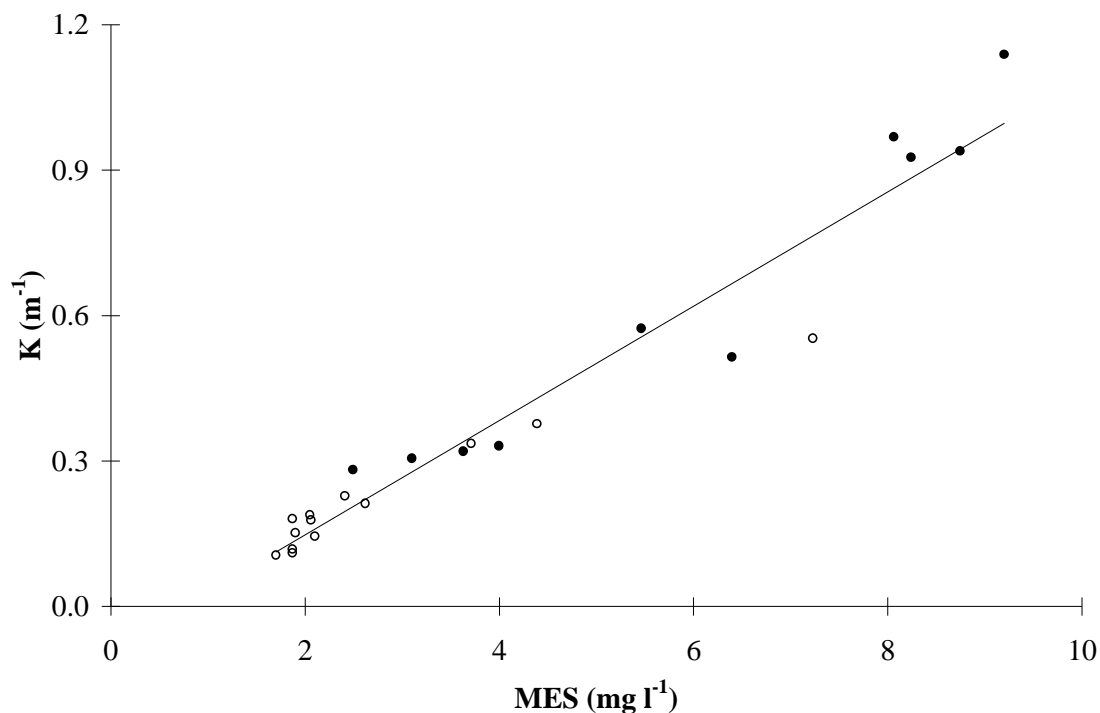


Fig. 5. Relation entre K et les concentrations de matières en suspension (MES) en janvier (●) et début mars (○) 1998. n = 23, r = 0,971

2.1.2.2. Nutriments

Distribution spatiale

En janvier 1998, les concentrations de phosphates, nitrates et silicates atteignent des eaux océaniques aux eaux de salinité égale à 30 respectivement 0,15 à 0,8 μM , 2 à 40 μM et 1,5 à 25 μM (Fig. 6), reflétant l'enrichissement des eaux côtières par les apports de la Gironde. Ces sels nutritifs sont conservatifs sur une gamme de salinité allant de 16 à 35,6, excepté pour les nitrates dont les valeurs se stabilisent autour de 68 μM entre 16 et 23 de salinité (Fig. 7). En début mars, les concentrations de sels nutritifs ont fortement diminué, en particulier les silicates mais surtout les phosphates qui ont montré fréquemment des valeurs indétectables (< 0,02 μM) dans la couche de mélange (Fig. 6, Tableau 4). Dans les eaux océaniques, les nitrates et les silicates sont en concentrations particulièrement faibles. Par ailleurs, les sels nutritifs ne sont plus conservatifs à partir de 33 de salinité alors qu'ils le sont encore dans les eaux de salinité inférieure (Fig. 7). Les isolignes de concentrations de nitrates montrent une tendance à l'augmentation au sud de l'île d'Yeu correspondant à l'influence des eaux du panache de la Loire.

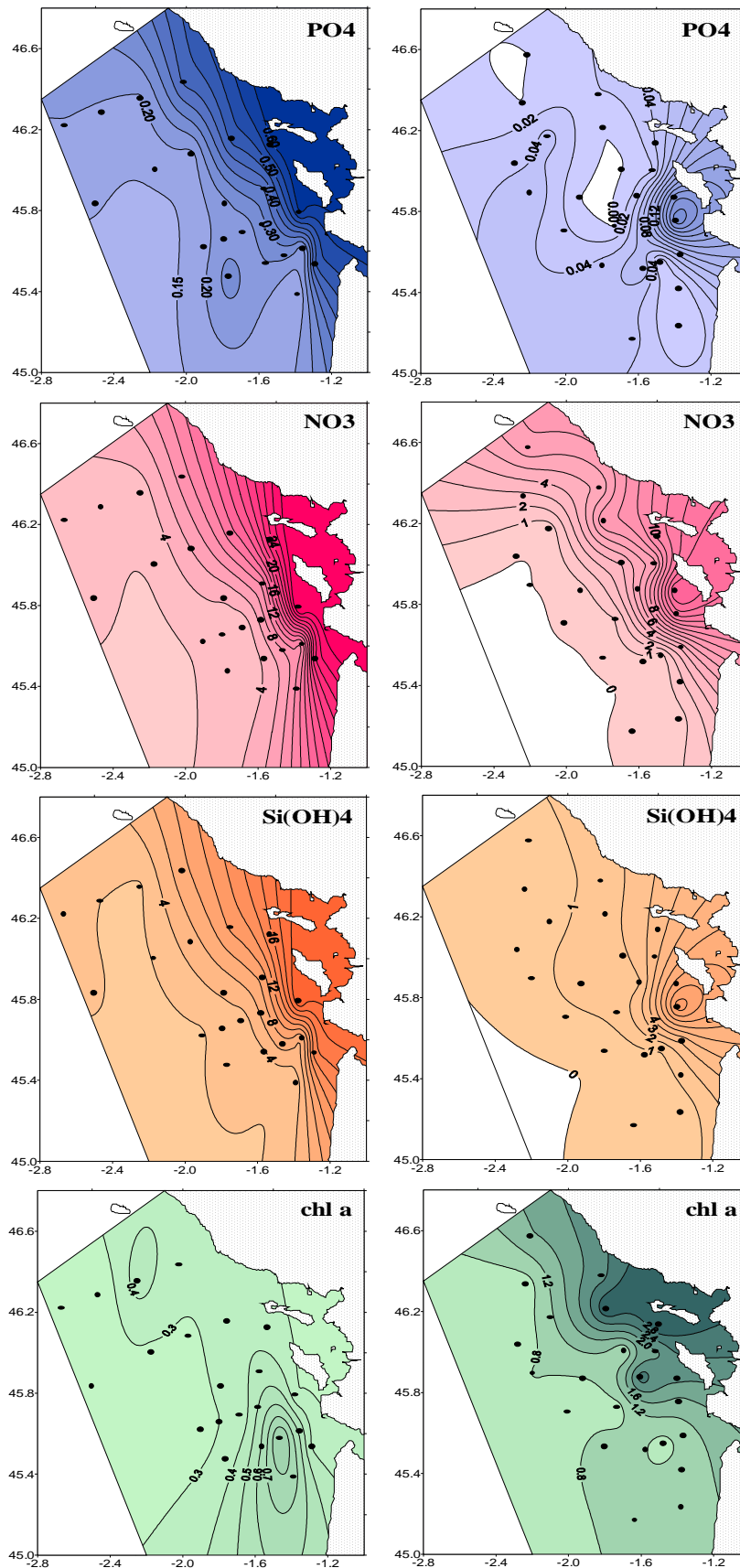


Fig. 6. Distribution spatiale des concentrations moyennes dans la couche de mélange des phosphates, nitrates, silicates (μM) et de la chl *a* ($\mu\text{g l}^{-1}$) en janvier et début mars 1998. Les points correspondent aux stations échantillonnées.

Distribution verticale

Dans le panache intermédiaire, la quasi homogénéité de la colonne d'eau en sels nutritifs en janvier précède une forte stratification en début mars avec deux types de distribution verticale : de très faibles valeurs de phosphate dans la couche de mélange augmentant en profondeur et des concentrations relativement élevées de nitrate et silicate en surface diminuant en profondeur (Tableau 4). Dans les eaux océaniques la distribution est homogène dans la colonne d'eau en janvier et en début mars.

Couche (m)	PO ₄			NO ₃			Si(OH) ₄			chl <i>a</i>		
	T	I	O	T	I	O	T	I	O	T	I	O
Janvier												
0-20	0,65 (0,12)	0,27 (0,09)	0,19 (0,03)	22,9 (5,8)	6,6 (3,2)	2,7 (0,3)	15,9 (4,2)	5,5 (2,3)	2,2 (0,5)	0,51 (0,15)	0,53 (0,19)	0,32 (0,07)
	9	14	8	11	16	15	11	16	15	11	16	16
> 20		0,23 (0,03)	0,20 (0,05)		5,1 (2,9)	2,6 (0,3)		4,7 (2,3)	2,2 (0,5)		0,44 (0,10)	0,33 (0,07)
		6	3		7	14		7	14		7	14
Début mars												
0-20	0,20 (0,06)	<0,020*	0,043 (0,018)	11,7 (3,4)	3,8* (2,9)	0,3 (0,2)	7,5 (2,3)	1,7* (1,1)	0,5 (0,2)	1,96 (0,65)	1,55* (0,96)	0,82 (0,21)
	5		11	5	15	11	5	15	11	5	15	11
> 20		0,057* (0,033)	0,053 (0,027)		1,4* (1,4)	0,2 (0,2)		1,5* (0,9)	0,6 (0,1)		2,14* (1,30)	0,91 (0,26)
		17	10		17	9		17	9		13	9

Tableau 4. Concentrations moyennes des phosphates, nitrates, silicates (μM) et de la chl *a* ($\mu\text{g l}^{-1}$) dans la couche de 0 à 20 m et dans la couche de profondeur supérieure à 20 m en janvier et début mars 1998 dans le panache turbide (T), intermédiaire (I) et dans les eaux océaniques (O). Les valeurs entre parenthèses sont les écart-types et les valeurs situées en dessous correspondent aux nombres d'observation. *Pour ces eaux stratifiées, la couche de mélange et la couche en dessous de cette zone mélangée sont considérées.

2.1.2.3. Chlorophylle *a*, production primaire et espèces phytoplanctoniques

Le fait marquant est l'augmentation des concentrations de chl *a* d'un facteur moyen de 3 entre janvier et début mars sur toute la zone (Fig. 6, Tableau 4) avec une augmentation parallèle de leur contribution aux pigments chlorophylliens *a* totaux (chl *a* + phéopigments *a*) de 53 ± 11 % ($n = 56$) en janvier à 67 ± 10 % ($n = 61$) en début mars dans la couche de mélange. Ces contributions sont restées faibles dans les eaux estuariennes même si elles sont supérieures en

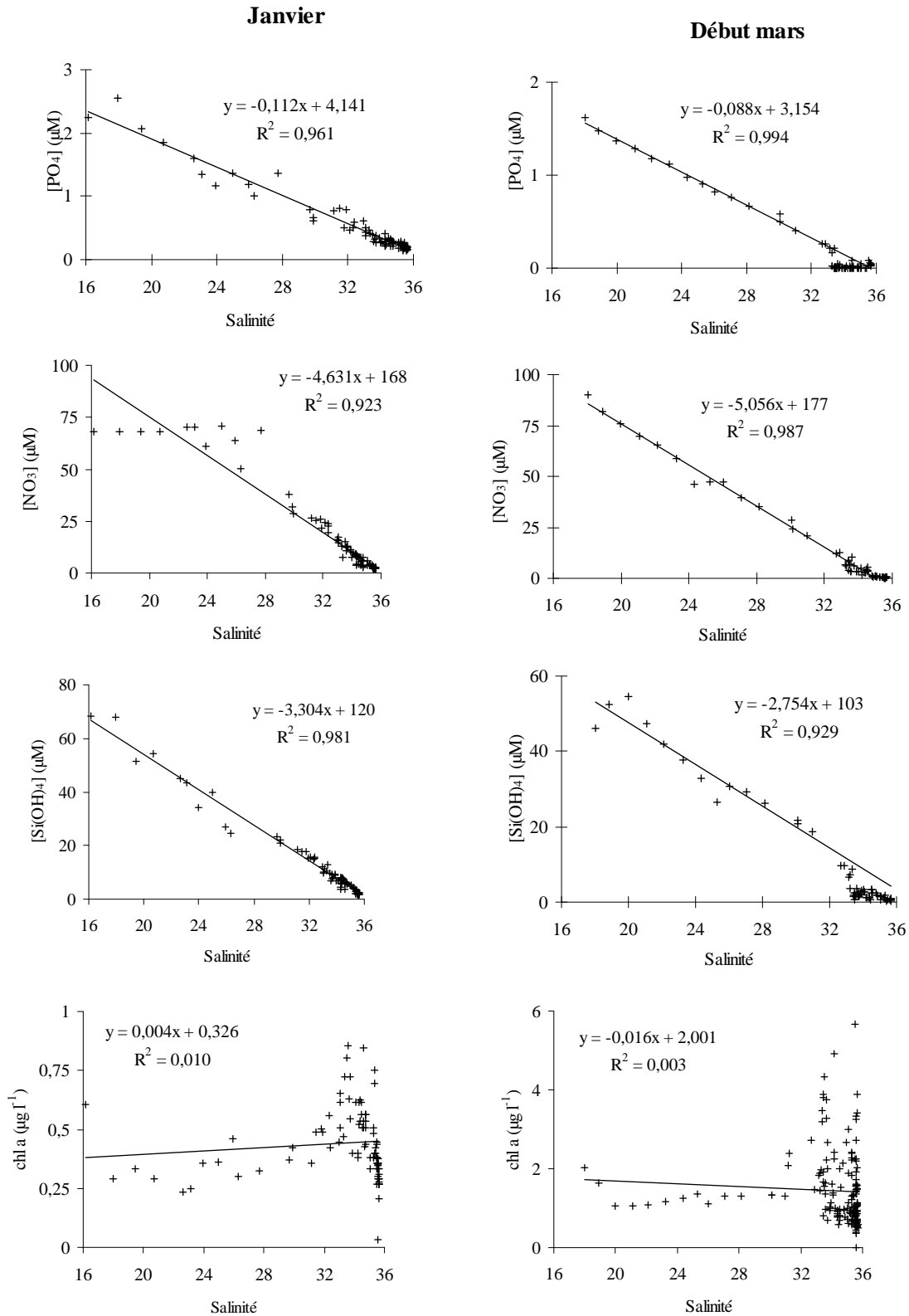


Fig. 7. Relation entre les teneurs en phosphate, nitrate, silicate et chl *a* de subsurface et la salinité en janvier et début mars 1998. En ce qui concerne les sels nutritifs, la droite de régression linéaire correspond aux eaux de salinité comprise entre 16 et 35,5 en janvier et entre 16 et 33 en début mars 1998.

début mars ($38 \pm 9 \%$, $n = 14$) à celles de janvier ($22 \pm 5 \%$, $n = 12$) et les teneurs en chl *a* ne sont pas corrélées avec la salinité aux deux périodes (Fig. 7). Les valeurs intégrées de chl *a* sur la couche euphotique ont également augmenté entre janvier (gamme de 3 à 22 mg m⁻²) et début mars (gamme de 10 à 102 mg m⁻²), les valeurs les plus élevées étant observées dans le panache intermédiaire. Enfin, des images SeaWiFS enregistrées entre le 11 et le 14 février le long d'un transect sur le plateau continental (Froidefond comm. pers., Fig. 8) montrent une augmentation des teneurs estimées en chl *a* de subsurface dans une zone de salinité comprise entre 35 et 35,5 d'après les simulations du modèle hydrodynamique 3D (Lazure, comm. pers.). Ces images témoignant d'un développement algal avant la campagne BIOMET 3 appuient l'interprétation des profils verticaux de la chl *a* observés à BIOMET 3 qui suggèrent une sédimentation récente des cellules. Ils montrent en effet une augmentation graduelle des teneurs en dessous de la couche de mélange sur tout le réseau et les stations fixes réalisées en début de mission (Fig. 9, Tableau 4) avec une contribution des phéopigments aux pigments chlorophylliens *a* totaux similaire en dessous de la couche de mélange ($29 \pm 7 \%$, $n = 42$) à celle mesurée dans la couche de mélange.

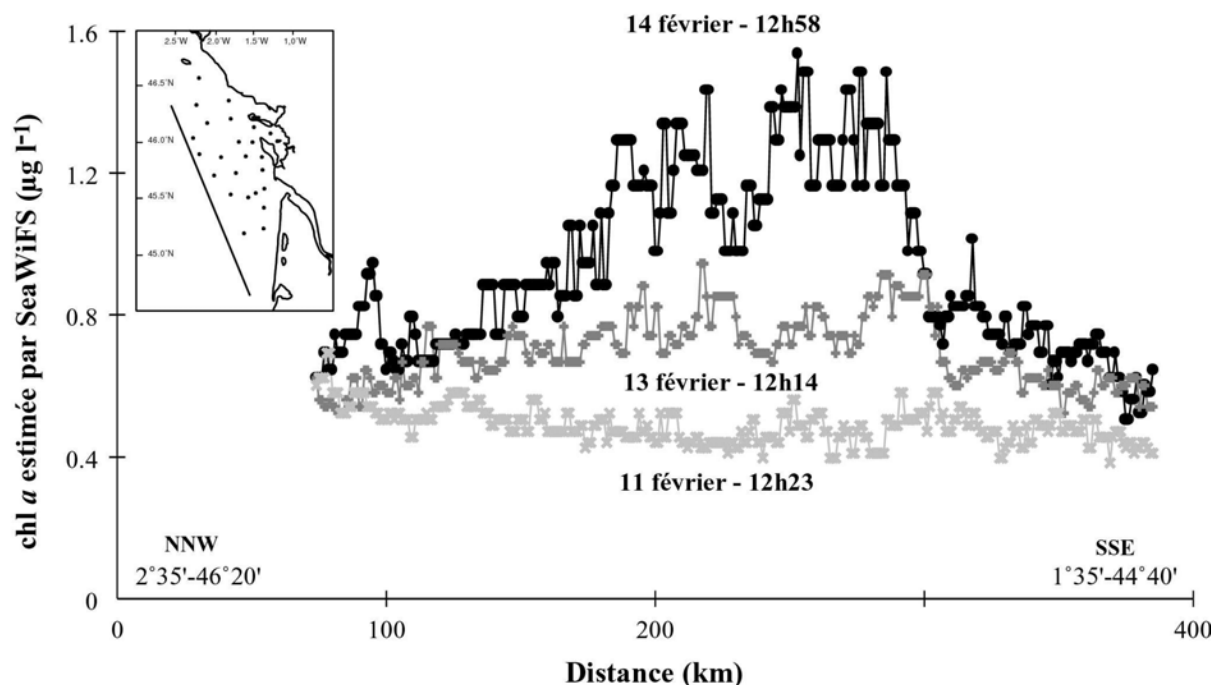


Fig. 8. Concentrations de chl *a* de subsurface estimées les 11, 13 et 14 février 1998 à partir d'images SeaWiFS le long d'un transect NNW-SSE sur le plateau continental Sud Gascogne. Le transect localisé ci-dessus est adjacent à la grille d'échantillonnage de BIOMET 3.

Les résultats de production primaire mesurée aux stations fixes sont encore plus marqués que ceux de la chl *a* puisqu'ils montrent une augmentation dans la couche de mélange d'un facteur minimal de 10 (Fig. 9). Les valeurs intégrées sur la couche euphotique évoluent d'une gamme de 11 à 46 mgC m⁻² j⁻¹ en janvier à 246 à 1186 mgC m⁻² j⁻¹ en début mars. La productivité de subsurface ou nombre d'assimilation (AN) a fortement augmenté, de 2-10 mgC mgChl *a*⁻¹ j⁻¹ en janvier à 13-55 mgC mgChl *a*⁻¹ j⁻¹ en début mars.

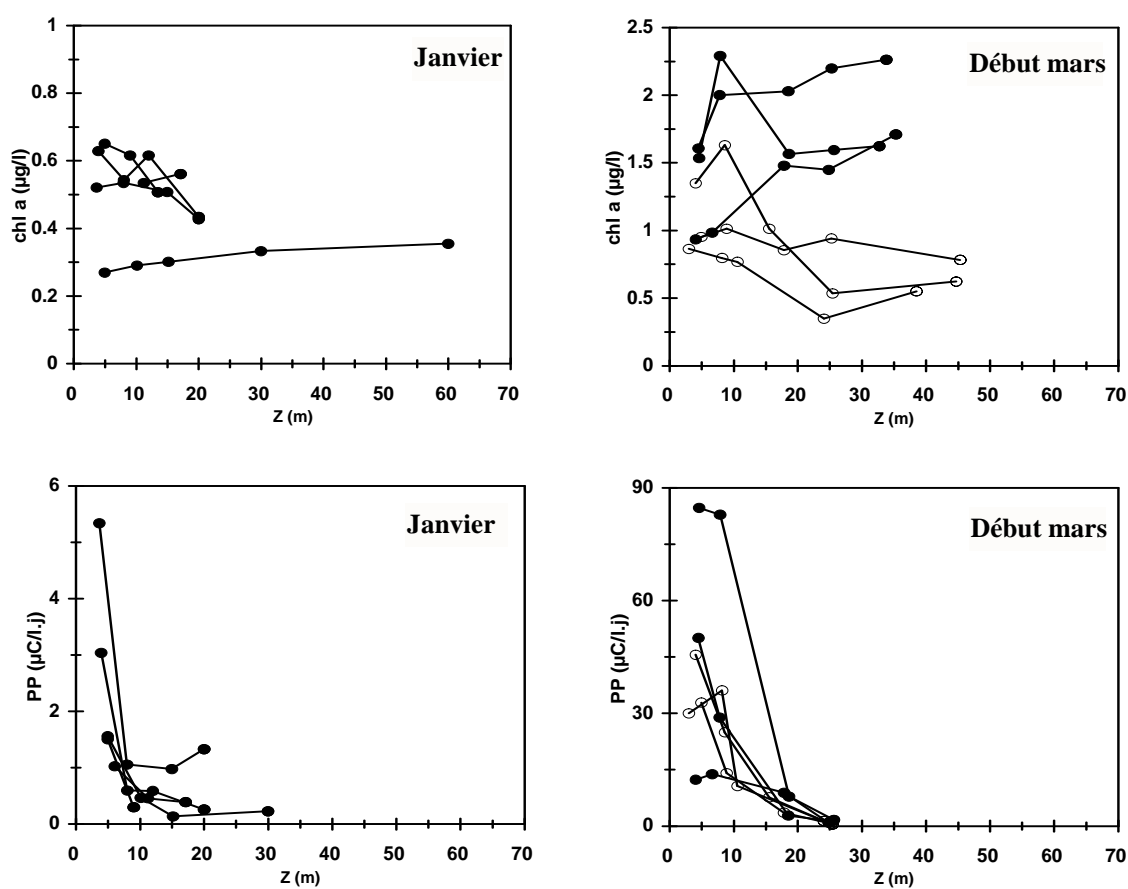


Fig. 9. Profils verticaux de chl *a* et production primaire (PP) aux stations fixes en janvier et début mars 1998. Les ronds pleins en début mars correspondent aux stations fixes échantillonnées en début de campagne et les ronds blancs en fin de campagne.

Les algues de taille supérieure à 20 μm représentent 50 à 80 % de la chl *a* et 40 à 70 % de la production primaire totales en début mars dans la couche de mélange alors qu'elles ne représentaient que 0 à 40 % de la chl *a* et 23 % de la production primaire en janvier. Ces algues dominantes en début mars ont été identifiées comme étant des diatomées représentées en majorité par le genre *Coscinodiscus* puis *Nitzschia* sp., *Thalassionema* sp., *Thalassiosira* sp., *Rhizosolenia* sp. et *Ditylum* sp..

2.1.2.4. Matière organique particulaire

Les différents éléments (C, N, P) de la matière organique particulaire n'ont pas montré de distribution verticale marquée aux deux périodes et ont été moyennés sur toute la colonne d'eau (Tableau 5). Leur répartition spatiale est marquée par un gradient positif des eaux océaniques au panache turbide. Entre janvier et début mars, les concentrations moyennes du COP et du NOP n'ont pas évolué alors que celles du POP ont augmenté d'un facteur 1,8, 1,6 et 1,4 respectivement dans le panache turbide, intermédiaire et dans les eaux océaniques (Tableau 5).

	Janvier						Début mars					
	POC μM	PON μM	POP μM	C:N at:at	N:P at:at	C:P at:at	POC μM	PON μM	POP μM	C:N at:at	N:P at:at	C:P at:at
Panache	29,2	3,0	0,086	9,7	24,5	239	26,5	2,5	0,158	10,3	16,2	162
Turbide	(14,5)	(1,6)	(0,043)	(0,6)	(9,5)	(94)	(7,8)	(0,4)	(0,029)	(1,6)	(4,5)	(61)
	7	7	6	7	6	6	7	7	6	7	6	6
Panache	15,1	1,6	0,073	9,4	28,1	261	18,0	1,8	0,119	10,4	16,9	177
Intermédiaire	(4,9)	(0,6)	(0,043)	(0,6)	(13,8)	(128)	(7,3)	(0,8)	(0,065)	(1,8)	(6,7)	(79)
	21	21	20	21	20	20	40	40	39	40	39	39
Eaux	12,5	1,4	0,053	9,1	31,4	282	13,4	1,2	0,075	11,4	16,8	192
Océaniques	(2,7)	(0,4)	(0,027)	(0,7)	(13,9)	(119)	(2,0)	(0,2)	(0,025)	(0,5)	(3,7)	(46)
	30	30	29	30	29	29	21	21	20	21	20	20

Tableau 5. Concentration et composition moyenne dans la colonne d'eau de la matière organique particulaire en terme de carbone (COP), d'azote (NOP) et de phosphore (POP) dans le panache turbide, intermédiaire et dans les eaux océaniques en janvier et début mars 1998. Les valeurs entre parenthèses sont les écart-types et les valeurs en dessous correspondent aux nombres d'observation.

2.1.3. Discussion

2.1.3.1. Mise en évidence des blooms hivernaux

L'occurrence de blooms phytoplanctoniques hivernaux dans le panache de la Gironde est clairement mise en évidence par l'évolution des sels nutritifs, de la chl *a* et de la production primaire entre janvier et début mars 1998. Ces blooms ont des caractéristiques similaires aux blooms printaniers « typiques » des eaux tempérées, c'est à dire dominés par de grandes diatomées.

En janvier, la conservativité observée des phosphates et des nitrates est conforme aux résultats du « Réseau National d'Observation » pour les hivers couvrant la période 1974-1984 et 1988-1989 (RNO 1989-1990) dans une gamme de salinité allant de 5 à 35 et aux résultats de Michel et al. (2000) pour l'hiver 1997. En début mars, la non-conservativité des sels nutritifs à partir de 33 de salinité et les très faibles concentrations de phosphates, fréquemment indétectables dans la couche de mélange mettent en évidence leur consommation biologique dans le panache. Les concentrations de phosphates sont aussi régulées par les processus d'adsorption-désorption sur des particules minérales. En dessous de 33 de salinité, les valeurs conservatives des nutriments sont relativement constantes à salinité égale pour les deux périodes (un peu plus faibles en début mars), ce qui est confirmé par Michel et al. (2000) incluant dans leur étude trois campagnes de mesure supplémentaires en début février, mi-mai et mi-octobre 1997.

L'importante contribution relative de la chl *a* aux pigments chlorophylliens *a* totaux dans le panache en début mars et la non-corrélation des teneurs en chl *a* avec la salinité (Fig. 7) montrent que ces pigments chlorophylliens peu dégradés n'ont pas été advectés par les eaux de la Gironde mais ont bien été produits dans le panache, ce qui est confirmé par les valeurs élevées de production. Par ailleurs, l'augmentation de la chl *a* en profondeur observée en début mars, accompagnée d'une contribution des phéopigments similaire à celle mesurée dans la couche de mélange, semble indiquer une récente sédimentation des cellules phytoplanctoniques qui se seraient développées avant BIOMET 3. La réponse photosynthétique de type tangente hyperbolique (Jassby & Platt 1976) d'un échantillon collecté dans un piège à particules (positionné sous la couche de mélange) à un gradient de

lumière (courbes P versus E) tend à confirmer cette hypothèse (résultats non figurés). Les images SeaWiFS de chl *a* de subsurface montrant des poussées phytoplanctoniques entre le 11 et le 14 février en bordure du panache (entre 35 et 35,5 de salinité) et l'épuisement précoce des phosphates dans la couche de mélange en début mars suggèrent également un développement algal entre les deux campagnes c'est à dire entre fin janvier et début mars. Ce développement n'a pas été détecté à la côte par les données SeaWiFS, le signal de turbidité pour des concentrations supérieures à 1 mg l⁻¹ interférant avec celui de la chl *a* (Froidefond et al. sous presse).

L'occurrence de ces blooms a des conséquences sur la composition de la matière organique particulaire (MOP). L'augmentation spatiale marquée du COP et du NOP des eaux océaniques au panache turbide aux deux périodes montre l'importance dans le panache de la MOP non phytoplanctonique apportée par la Gironde, ce qui est confirmé par les valeurs élevées du rapport C:N (entre 9 et 12, Tableau 5) en comparaison de celui de Redfield (6,6) et la mauvaise corrélation entre COP et chl *a* (résultats non figurés). En se basant sur un rapport C:chl *a* constant de 50:1, même s'il est bien évident que ce facteur a pu varier entre les deux périodes, et le rapport C:N de Redfield, le carbone et l'azote phytoplanctonique ont augmenté entre les deux campagnes (comme la chl *a*) d'un facteur de 3,8, 3,0 et 2,5 respectivement dans le panache turbide, intermédiaire et dans les eaux océaniques. Dans le même temps, COP et NOP n'ont pas augmenté (Tableau 5), ce qui peut s'expliquer par une diminution parallèle des MES entre les deux campagnes (Fig. 5). En conséquence la contribution des algues à la MOP de toute la zone d'étude en terme de carbone et d'azote a fortement augmenté entre janvier (respectivement 10 et 16 % du COP et du NOP) et début mars (respectivement 30 et 54 %). Contrairement au COP et au NOP, le POP a légèrement augmenté (respectivement de 1,8, 1,6, 1,4 dans les mêmes eaux), ce qui explique la diminution des rapports C:P et N:P par rapport à janvier (Tableau 5). Comme cela a été montré en conditions naturelles (Berland et al. 1988, Pujon-Pay 1995), le POP, plus labile que le COP et le NOP, est un meilleur traceur de la matière organique vivante ou récemment synthétisée. Toutefois cette augmentation du POP n'atteint pas celle attendue pour le phosphore phytoplanctonique calculé à partir des concentrations de chl *a*, des rapports C:chl *a* de 50:1 et C:P de Redfield (106), ce qui pourrait indiquer une limitation par le phosphore à la fin du bloom.

2.1.3.2. Déterminisme des blooms hivernaux

Le cycle saisonnier de la production et de l'accumulation de biomasse phytoplanctonique dans l'océan est le résultat de l'interaction entre plusieurs facteurs dont les plus importants sont la température, les sels nutritifs, le broutage et la lumière disponible (Thórdardóttir 1986).

Facteurs non déterminants

La température

La température est connue pour avoir un effet positif sur le taux de croissance des cellules algales (Eppley 1972). En janvier alors que les températures étaient un peu plus élevées qu'en début mars (de 0,5 à 1 °C), les blooms phytoplanctoniques n'étaient cependant pas encore initiés. Par ailleurs, les expériences d'enrichissement en nutriments réalisées en fin février 1999 ont montré une stimulation de la croissance phytoplanctonique dans un échantillon enrichi alors que la température était aussi faible que 10 °C (Cf. page 91). Cela confirme que les faibles variations de température en période hivernale n'affectent pas le déclenchement de blooms.

Les sels nutritifs

Les concentrations de phosphates, nitrates et silicates étant très supérieures à la constante de demi-saturation de leur assimilation (respectivement < 0,1, 0,5 et 2 μM ; Thingstad et al. 1993, Del Amo & Brzezinski 1999, Kudela & Cochlan 2000) dans le panache intermédiaire et turbide en janvier (Tableau 4, Fig. 6), ils ne sont par conséquent pas limitants à cette période pour la croissance phytoplanctonique. Les concentrations de silicates proches de leur constante de demi-saturation dans les eaux océaniques sont cependant suffisantes pour supporter une augmentation de chl *a* de 0,5 à 0,6 $\mu\text{g l}^{-1}$ (en considérant le rapport de production de 1,1 μg de chl *a* à partir de 1 μmol d'azote et un rapport atomique N:Si équilibré de 1 nécessaire à la croissance de diatomées ; Gowen et al. 1992). Dans ces conditions de relative abondance des nutriments en janvier, les blooms n'étaient pas initiés. Par conséquent, le statut des nutriments n'a pas été un facteur déclenchant des blooms, même si les débits les plus élevés de l'année (Fig. 10) sont intervenus en fin janvier et ont dû enrichir encore les eaux du plateau continental.

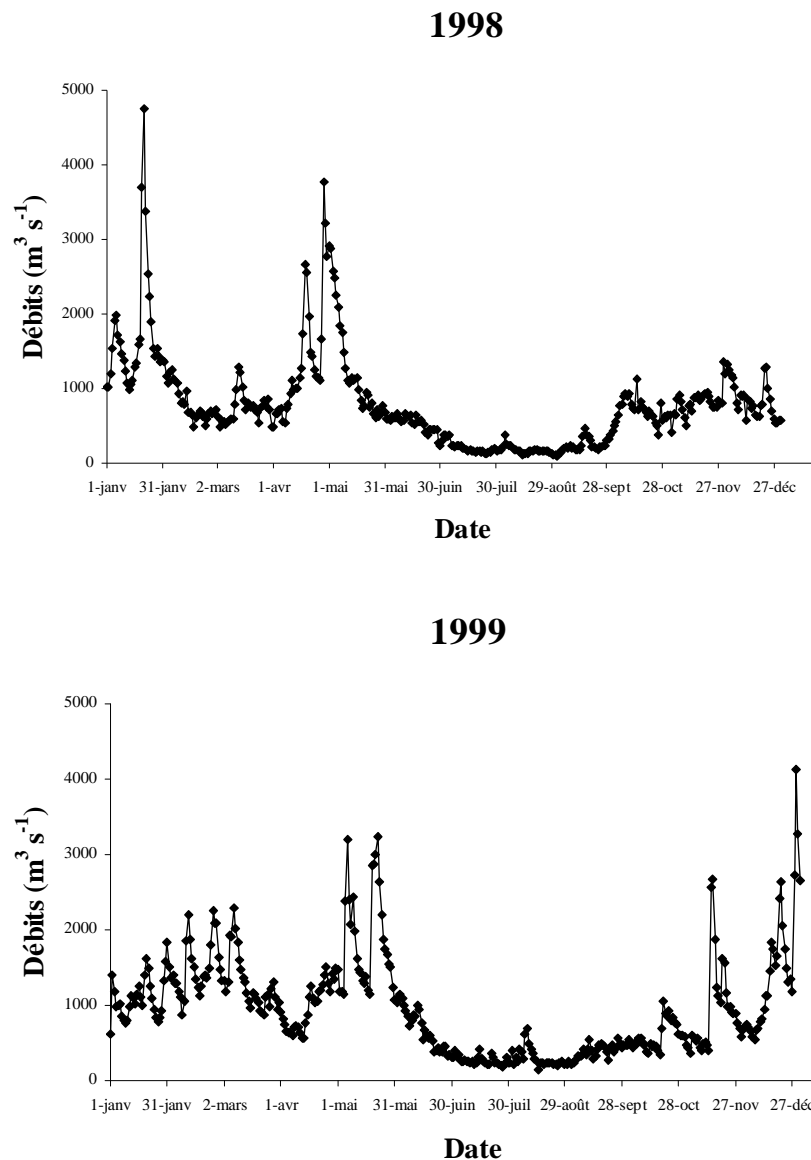


Fig. 10. Débits journaliers de la Gironde au cours des années 1998 et 1999 obtenus auprès du port autonome de Bordeaux (Jegou comm. pers.) et intégrant les débits de la Garonne (station La Réole) et de la Dordogne (station Pessac).

Le broutage

L'effet du broutage sur la réduction de l'amplitude de blooms printaniers est observé en eaux côtières (Thórdardóttir 1986, Yin et al. 1996). Dans la baie de Narragansett aux Etats Unis, il a été montré qu'une relaxation de la pression de broutage pouvait être à l'origine du déclenchement de blooms de fin d'hiver-début du printemps (Pratt 1965, Martin 1970). Dans le panache de la Gironde, l'abondance du mésozooplancton a augmenté parallèlement à celle de la chl *a* et la pression de broutage sur la chl *a* est restée la même d'après des analyses de

contenus stomacaux des principales espèces mésozooplanctoniques aux deux campagnes (Sautour comm. pers.) et d'après des expériences d'incubation *in situ* (Vincent & Hartmann 2001).

Par conséquent température, sels nutritifs et broutage ne sont pas les facteurs responsables du déclenchement des blooms hivernaux de 1998.

Facteurs déterminants

Le concept de profondeur critique

Le concept de profondeur critique de Sverdrup (1953) place la lumière disponible pour les cellules phytoplanctoniques, c'est à dire l'irradiance moyenne (E_m) reçue dans la couche de mélange, au rang de principal facteur responsable du déclenchement de blooms, à condition que les sels nutritifs soient abondants et que la distribution des algues dans la couche de mélange soit homogène. Si la profondeur de la couche de mélange (z_m) dans laquelle les algues sont piégées devient inférieure à la profondeur critique (Z_{cr}), des blooms phytoplanctoniques peuvent être initiés car la production nette (production primaire brute – taux de pertes de la biomasse phytoplanctonique) intégrée sur 24 h et sur z_m devient positive. Ce concept est une référence encore aujourd'hui (Sathyendranath & Platt 1994, Mann & Lazier 1996, Obata et al. 1996, Falkowski & Raven 1997). Smetacek & Passow (1990) discutent certaines imprécisions du modèle de Sverdrup en particulier sur le terme de pertes mais ne remettent pas en cause le concept lui-même. Le récent modèle de diffusion turbulente de Huisman et al. (1999) montre la possible existence de deux mécanismes indépendants pour le déclenchement de blooms : celui lié au concept de Sverdrup pour des eaux bien mélangées, relativement profondes et/ou turbides et celui d'une turbulence critique en dessous de laquelle le taux de croissance du phytoplancton dépasse la vitesse de mélange vertical, permettant aux algues de se maintenir dans la couche d'eau supérieure et de se développer quelle que soit la profondeur de celle-ci. Ce deuxième concept s'appliquerait à des eaux peu turbides et expliquerait l'observation par Townsend et al. (1992) et Eilertsen (1993) de blooms phytoplanctoniques en l'absence de stratification dans des eaux effectivement transparentes et soumises à un faible taux de mélange vertical, respectivement au large du Golfe du Maine et dans plusieurs fjords norvégiens. A l'aide de modèles numériques, Lucas et al. (1998) montrent que des processus tels la sédimentation et la perte de cellules par diffusion

turbulente à la base de la couche de mélange doivent être pris en compte dans le terme de pertes. Ils montrent également qu'une stratification périodique imposée par le cycle semidiurne de la marée a aussi peu d'influence sur le déclenchement de blooms qu'une colonne d'eau non stratifiée. Ces processus interviennent dans des systèmes où l'hydrodynamisme est dominé par le courant de marée et dans lesquels l'influence d'arrivées d'eaux douces est faible, tel que le sud de la baie de San Francisco (Cloern 1984).

Dans le panache de la Gironde, les courants de marée sont assez faibles et leur influence est limitée aux eaux estuariennes de l'embouchure de la Gironde à des profondeurs de moins de 20 m (Lazure comm. pers.). Les principales sources de turbulence sont le vent et les courants de densité dus à l'arrivée d'eau douce sur le plateau (Lazure & Jegou 1998). Dans ces conditions, la stratification haline de la colonne d'eau, dès l'instant où elle est établie, n'est pas transitoire mais persiste pendant plusieurs mois, même si la profondeur de l'halocline peut varier de plusieurs mètres après des coups de vent. Par conséquent la couche de mélange est relativement bien définie et stable à l'échelle d'un bloom phytoplanctonique (5-6 jours). Le calcul de l'irradiance moyenne reçue par les cellules algales dans cette couche est justifié. L'expression de E_m est la suivante, E_o étant l'irradiance incidente :

$$E_m = (E_o - E_o \times e^{-Kz_m}) / Kz_m$$

Comparaison E_m - E_k

Le changement du statut de la lumière disponible pour les cellules phytoplanctoniques est mis en évidence par la comparaison entre E_m instantanée, calculée en tenant compte des valeurs moyennes de K et de z_m à chaque campagne (Tableau 3) et des valeurs de E_o (mesurée toutes les dix minutes) converties en PAR, et le paramètre de saturation de la lumière (E_k), indicateur du niveau de lumière au dessus duquel celle-ci n'est plus limitante pour la production phytoplanctonique (Sakshaug et al. 1997). Une approche similaire a été menée par Jellison & Melack (1993) dans un lac californien. E_k n'a pas été mesuré en janvier mais nous l'avons approximé par sa valeur moyenne en début mars ($350 \pm 88 \mu\text{Einst m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Tableau 6). Cette approximation est légitime si l'on considère des résultats antérieurs (Herbland comm. pers.) obtenus dans le pertuis Breton (Fig. 1) montrant une gamme de variation semblable à celle mesurée en début mars pour la période de décembre 1995 à mars 1996. Les résultats montrent que la lumière serait limitante en janvier ($E_m < E_k$ pendant toute la durée d'ensoleillement du jour) alors qu'elle ne serait pas limitante ($E_m > E_k$) pendant 40 % de la durée d'éclairement en

début mars (Tableau 6). Une proportion similaire de la durée d'ensoleillement a été observée en juin 1998 (campagne PEGASE) alors que la lumière incidente est la plus élevée de l'année 1998 (Fig. 11) et n'est plus limitante, E_k atteignant en moyenne $465 \mu\text{Einst m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La proportion sur 24 h est évidemment supérieure (30 % en juin contre 18 % en début mars) étant donné l'allongement de la durée d'ensoleillement. Par conséquent, le statut de la lumière disponible pour les cellules phytoplanctoniques a changé entre les deux périodes et on peut le suspecter comme étant le facteur déclenchant des blooms.

	Janvier	Début mars	Juin
E_k	350	350 ± 88	465 ± 82
($\mu\text{Einst m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		[226-480]	[390-593]
Durée moyenne avec $E_m > E_k$	0	40 ± 15	48 ± 14
(% de la durée d'ensoleillement)		[17-63]	[28-60]
Durée moyenne avec $E_m > E_k$	0	18 ± 7	30 ± 9
(% de 24 h)		[8-28]	[19-40]

Tableau 6. Valeurs moyennes dans le panache intermédiaire en janvier, début mars et juin 1998 (campagne PEGASE) du paramètre de saturation de la lumière E_k et du pourcentage de temps dans la journée (% de la durée d'ensoleillement ou % de 24 h) pendant lequel l'irradiance moyenne (E_m) instantanée est supérieure à E_k .

Comparaison z_m - Z_{cr}

Pour le montrer, nous avons calculé la profondeur critique (Z_{cr}) d'après la reformulation de l'équation de Sverdrup (1953) par Nelson & Smith (1991) et l'avons comparé à z_m . La formule de Z_{cr} utilisée est la suivante :

$$Z_{cr} = 0,85 \times (1-r) \times E_o / (K \times I_c)$$

r est le pourcentage du PAR réfléchi à la surface de l'océan et I_c est l'irradiance à la profondeur de compensation. Les valeurs de r ont varié de 0,04 dans les eaux océaniques à 0,06 dans le panache turbide en janvier et de 0,010 à 0,015 dans les eaux océaniques et le panache intermédiaire respectivement en début mars (Froidefond et al. sous presse). E_o est le PAR incident intégré sur 24 h, exprimé en $\mu\text{Einst m}^{-2} \text{s}^{-1}$. I_c a été estimée par la valeur de $35 \mu\text{Einst m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de Perry & Marra mesurée dans le golfe du Maine (Nelson & Smith 1991) prenant en compte au mieux le terme de pertes de la biomasse algale (broutage, sédimentation).

En janvier, z_m est toujours supérieure à Z_{cr} . En revanche en début mars, elle est inférieure dans le panache intermédiaire et similaire dans les eaux océaniques adjacentes en début mars, compte tenu de la variabilité de Z_{cr} (Tableau 3). Dans le panache intermédiaire, cette évolution s'explique à la fois par une diminution de z_m (d'un facteur 2) due à l'halostratification de la colonne d'eau en début mars (Fig. 4) et par une diminution de K (d'un facteur 3) qui augmente la valeur de Z_{cr} (Tableau 3). Dans les eaux océaniques considérées, seul K a diminué de moitié, participant ainsi à l'augmentation de Z_{cr} (Tableau 3) alors que z_m est restée toujours suffisamment faible (50 m à 60 m ; colonne d'eau non stratifiée ; Fig. 4) pour être proche de Z_{cr} . Ainsi d'après le modèle de Sverdrup, la lumière disponible n'était pas suffisante en janvier pour le déclenchement d'un bloom alors qu'elle l'est devenue en début mars dans le panache intermédiaire et dans les eaux océaniques.

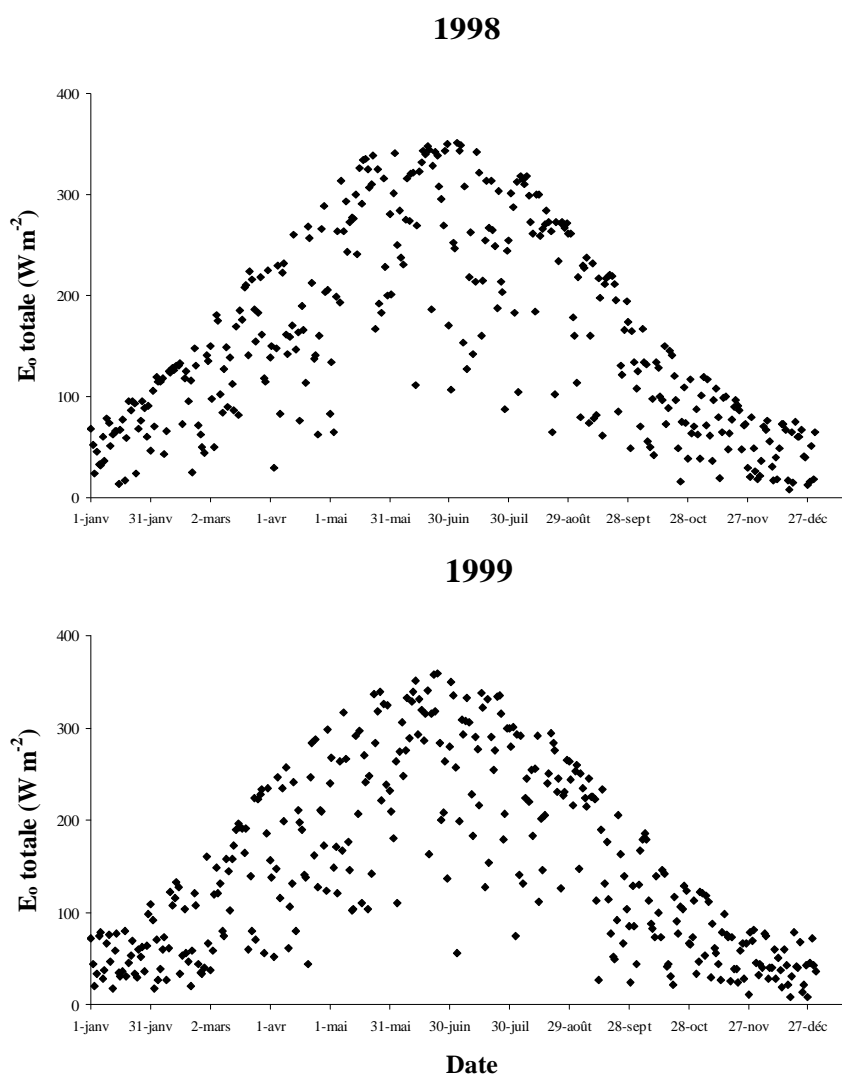


Fig. 11. Irradiance incidente totale (300-2500 nm) intégrée sur la journée et rapportée à l'unité de seconde enregistrée par Météo France à La Rochelle (Jegou comm. pers.).

Comparaison de E_m avec l'irradiance critique de Riley (1957)

En rapprochant les périodes d'occurrence de blooms dans de nombreux estuaires de la côte est des Etats Unis des valeurs respectives de E_m , Riley (1957) a défini empiriquement une valeur critique de E_m ($20,9 \text{ W m}^{-2}$) à atteindre pour le déclenchement de blooms dans les eaux côtières tempérées. Cette valeur est la moyenne mensuelle de la quantité totale de lumière reçue pendant 24 h et ramenée par unité de seconde et calculée par Riley en prenant pour K la valeur correspondant au PAR. En janvier, la moyenne hebdomadaire de E_m (échelle de temps mieux adaptée à celle d'un bloom) est très inférieure à cette valeur critique alors qu'en début mars, elle est largement atteinte dans le panache intermédiaire quand les blooms phytoplanctoniques ont été initiés (Tableau 7) et elle s'en rapproche dans les eaux océaniques. Par conséquent cette valeur critique semble s'appliquer dans le panache de la Gironde pour prédire le déclenchement de blooms. Cette valeur prédictive a déjà été appliquée avec succès dans la baie de Narragansett (Hitchcock & Smayda 1977) et dans la partie nord ouest du Golfe de Gascogne sur le plateau continental armoricain (Morin et al. 1991).

Date	Panache intermédiaire	Eaux océaniques
1-8 janv	6,8	4,5
9-16 janv	8,5	5,6
17-24 janv	9,7	6,3
21-28 fév	56,0	14,4
1-8 mars	73,2	18,8
9-16 mars	73,4	18,9

Tableau 7. Moyenne hebdomadaire de l'irradiance totale E_m (W m^{-2}) dans le panache intermédiaire et les eaux océaniques en janvier et début mars 1998.

Importance et évolution de K et de z_m

En considérant cette valeur critique pour E_m , nous avons représenté les isolignes d'irradiance incidente critique nécessaire au déclenchement de bloom en fonction de K et de z_m (Fig. 12). L'irradiance incidente critique est beaucoup plus faible en début mars dans le panache intermédiaire (I) et les eaux océaniques (O) (I3, O3 ; respectivement ≈ 50 et 175 W m^{-2}) qu'en janvier (I2, O2 ; respectivement 200 et 325 W m^{-2}) car les conditions de K et/ou de z_m ont changé. Dans le même temps, l'irradiance incidente n'a qu'augmenté d'une moyenne de 85 W m^{-2} en janvier à 128 W m^{-2} en février (Fig. 11). A cette période ce sont effectivement la

stratification haline de la colonne d'eau (diminuant z_m , Fig. 4) et/ou la diminution de K c'est à dire de la turbidité (Fig. 5) qui prédominent dans les processus de déclenchement de blooms sur l'irradiance incidente elle-même.

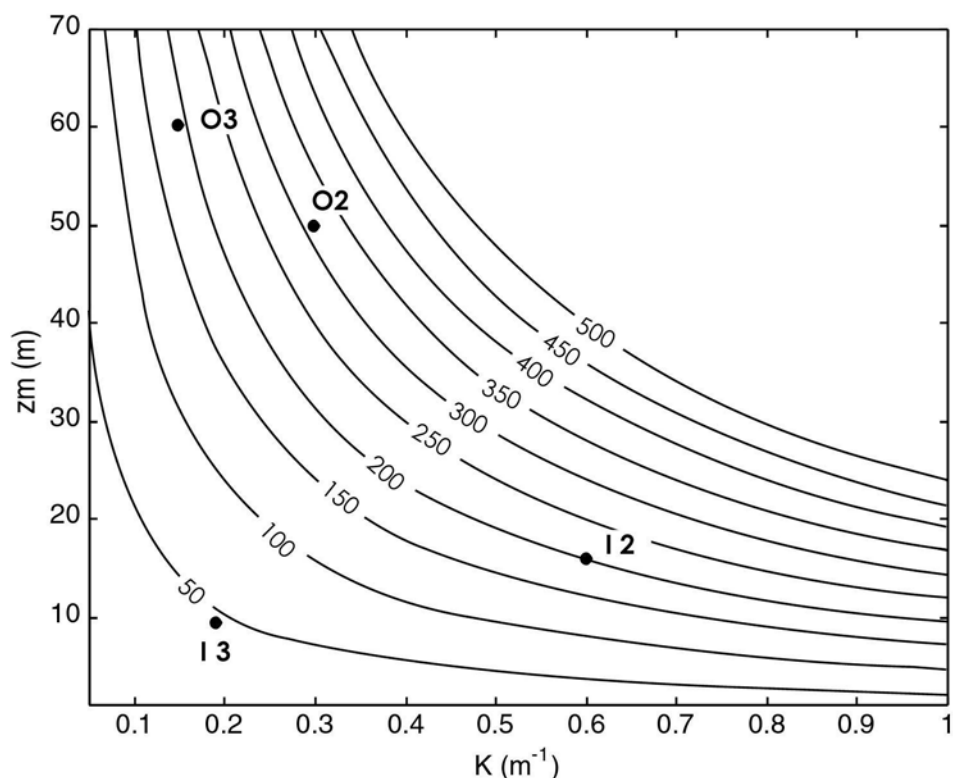


Fig. 12. Irradiance incidente (E_0) totale minimale nécessaire au déclenchement de bloom en fonction de z_m , de K et en utilisant la valeur critique de Riley (1957) pour E_m ($20,9 W m^{-2}$). Les valeurs moyennes de K et de z_m dans le panache intermédiaire et les eaux océaniques sont représentées en janvier (I2, O2) et en début mars (I3, O3).

L'évolution des paramètres K et z_m est étroitement liée à l'apparition de courtes fenêtres anticycloniques en période hivernale, interférant sur le régime des débits de la Gironde et l'orientation et la force du vent, processus physiques qui prévalent sur l'évolution et les caractéristiques du panache de la Gironde. En effet la transition entre mélange vertical fort-coefficient K élevé en janvier et halostratification-coefficient K faible en début mars dans le panache intermédiaire coïncide avec la transition entre deux régimes physiques différents, débit élevé ($1570 m^3 s^{-1}$, moyenne lissée sur 7 jours avant le début de BIOMET 2)-vents forts de Sud Ouest en janvier et faible débit ($628 m^3 s^{-1}$ avant le début de BIOMET 3)-vents faibles de Nord Est en début mars, ce dernier régime s'étant instauré approximativement depuis la première quinzaine de février (Fig. 10, 13). Le rôle de l'halostratification sur le

déclenchement de blooms en eaux côtières dans des systèmes similaires où le régime des vents et le débit des fleuves sont les processus physiques majeurs a été précédemment mis en évidence (Thórdardóttir 1986, Morin et al. 1991, Yin et al. 1996). Toutefois il a été le plus étudié dans les estuaires tidaux (Fortier & Legendre 1979, Cloern 1984, Demers et al. 1986, Pennock 1985, Pennock & Sharp 1994) où la dynamique de la stratification est complexifiée par la variabilité associée aux fluctuations semidiurnes et hebdomadaires du courant de marée (Simpson et al. 1990, Cloern 1991, Koseff et al. 1993, Lucas et al. 1998). Dans ces systèmes, une stratification haline de la colonne d'eau s'établirait en période à la fois de forts débits de fleuve et de mortes eaux du cycle de marée (Cloern 1984, 1991, Ragueneau et al. 1996). Elle peut être alors à l'origine du déclenchement de blooms en condition de faible turbidité (Cloern 1984), les deux pouvant être étroitement liés, si l'on considère que l'halostratification stabilisant la colonne d'eau faciliterait la sédimentation des particules en suspension (Cloern 1984). Dans le panache de la Gironde, les variations d'une année sur l'autre des débits, de la direction et l'orientation des vents doivent être déterminantes sur la période d'apparition des blooms hivernaux.

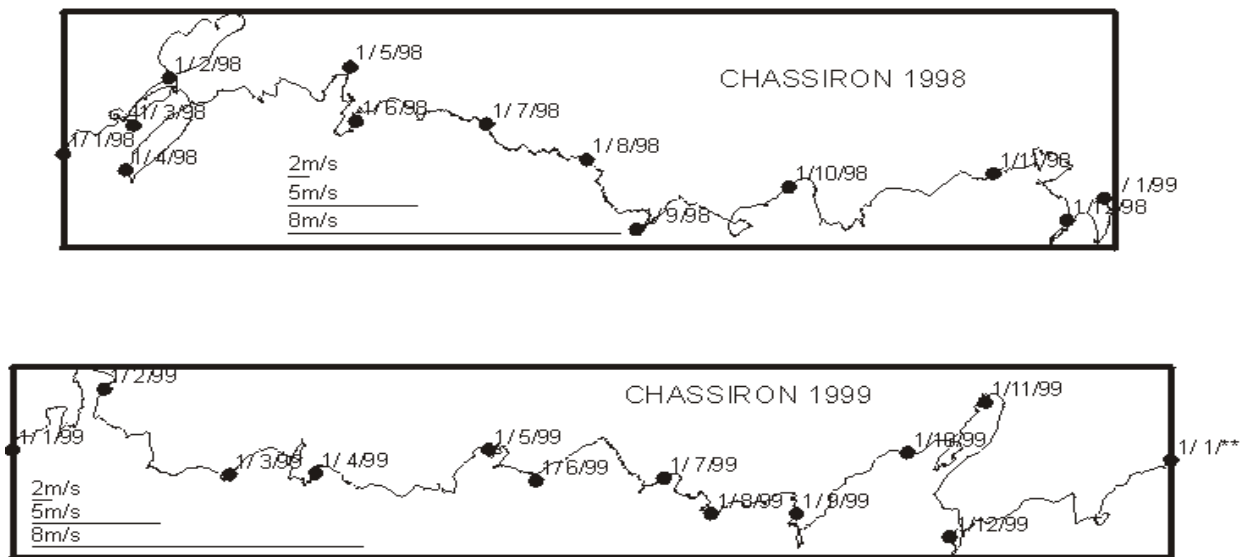


Fig. 13. Hodographes intégrés de la tension de vent mesurée à Chassiron (pointe de l'île d'Oléron) par Météo France (Jegou comm. pers.). L'échelle représente l'intégration de la tension de vent pendant 1 mois pour trois vitesses de vent constantes.

2.2. Blooms phytoplanctoniques hivernaux en 1999

2.2.1. Objectifs

Le déclenchement des blooms phytoplanctoniques hivernaux est-il un scénario reproductible d'une année sur l'autre ou bien l'année 1998 a-t-elle été une année « exceptionnelle » ? La campagne PLAGIA 1 programmée en fin février 1999 (Tableau 1) a été conçue pour apporter une réponse à cette question.

2.2.2. Résultats

Les conditions hydrologiques de fin février 1999 se rapprochent de celles de début mars 1998. Le panache de la Gironde présente déjà une extension vers le sud et le large (Fig. 17, page 76) avec une dominante de vents d'ouest-nord ouest (Fig. 13) et des débits plus élevés qu'en début mars 1998 ($1298 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ en moyenne 7 jours avant le début de la campagne, Fig. 10). Les gradients horizontaux de salinité sont relativement peu élevés, dans une gamme de salinité de surface de 33,2 à 35,4 et les températures comprises entre 9,6 et 11,5 °C sont un peu plus froides qu'en début mars 1998 (Fig. 17). Toutefois tout comme en début mars 1998, les gradients verticaux de salinité sont déjà bien marqués contrairement à ceux de la température (différence surface-fond < 1,7 °C), en particulier pour les stations de salinité de surface inférieure à 34,5 (Fig. 14, 17) et témoignent d'une stratification haline précoce de la colonne d'eau avec des différences de densité surface-fond allant de 0,3 à 1,2 kg m^{-3} et des profondeurs de couche de mélange de $10 \pm 8 \text{ m}$ ($n = 11$). Les eaux de salinité supérieure à 34,5 sont, comme en 1998, peu stratifiées et z_m atteint en moyenne $55 \pm 29 \text{ m}$ ($n = 8$).

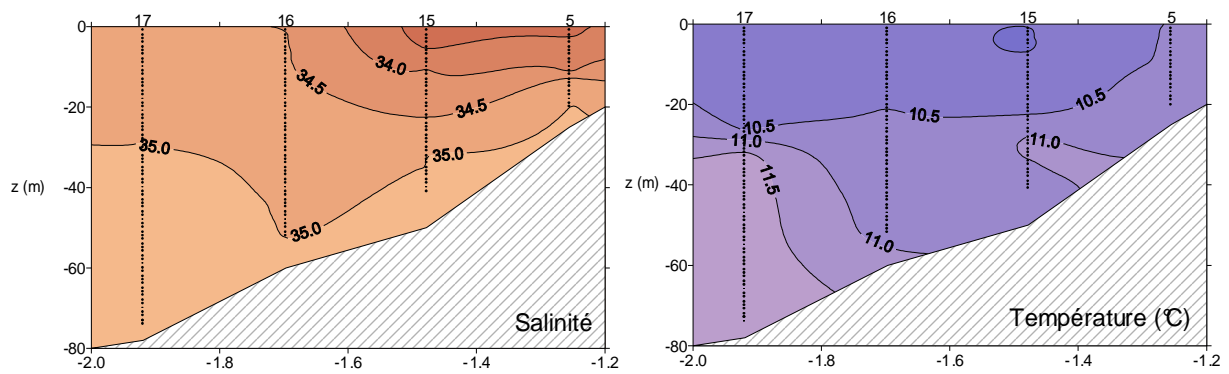


Fig. 14. Distribution verticale de la salinité et la température le long de la radiale 3 en fin février 1999

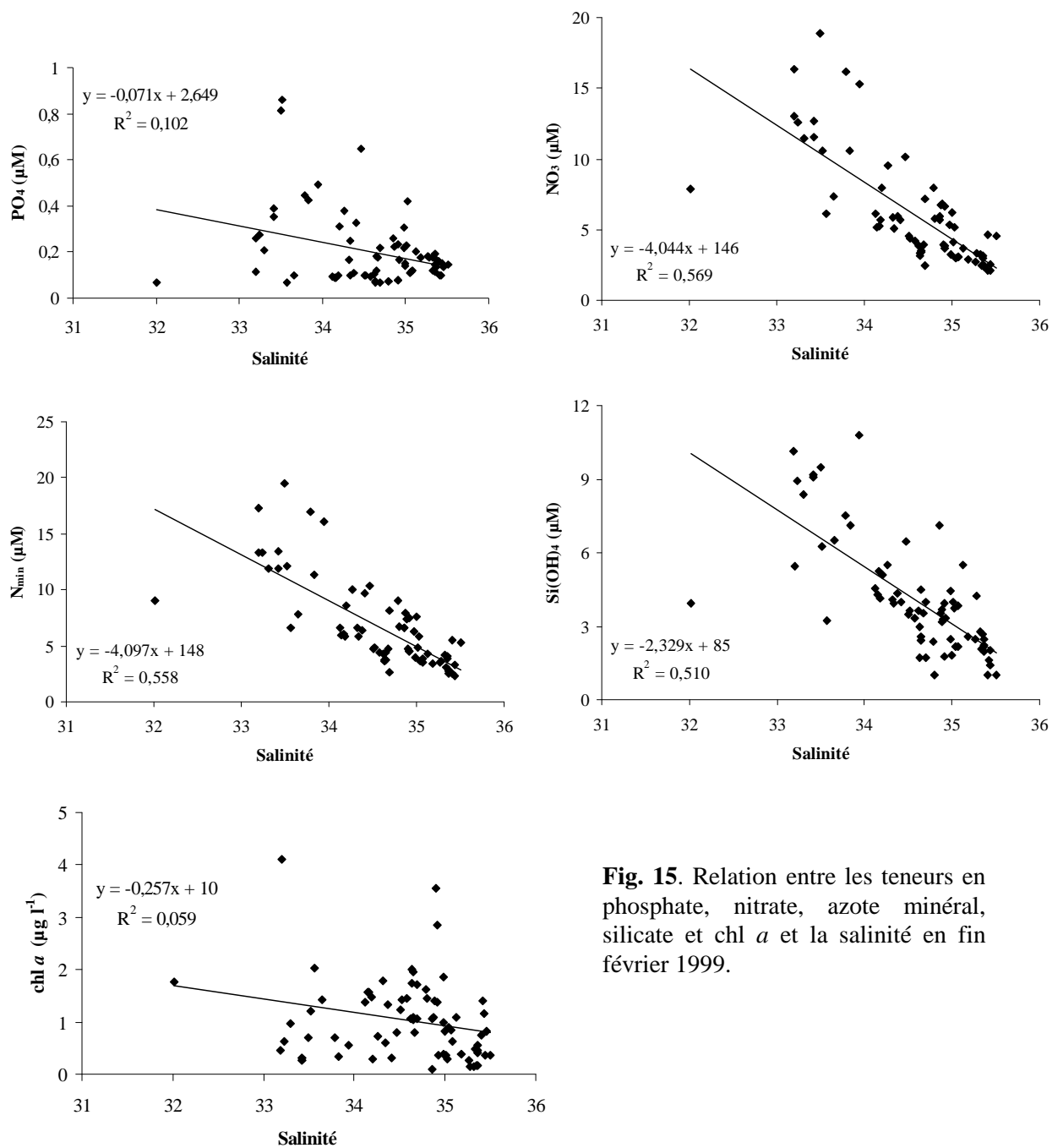


Fig. 15. Relation entre les teneurs en phosphate, nitrate, azote minéral, silicate et chl *a* et la salinité en fin février 1999.

La présence de poussées algales en fin février 1999 est effectivement mise en évidence par les teneurs en chl *a* dont la gamme de variation dans la couche de mélange s'étend de 0,27 à 3,56 μg l⁻¹ (Fig. 15, 16) avec une moyenne de $1,15 \pm 0,81$ μg l⁻¹ (n = 48) sur tout le réseau et qui sont typiquement de l'ordre de celles rencontrées en début mars 1998. Cette chl *a* a été produite dans le panache et non pas advectée d'après une contribution relativement élevée de la chl *a* aux pigments chlorophylliens *a* totaux (60 ± 14 %, n = 48) dans la couche de mélange et la non-corrélation des teneurs en chl *a* avec la salinité (Fig. 15). La majorité de cette chl *a*

est représentée par les cellules algales supérieures à 20 μm ($58 \pm 13 \%$, $n = 6$) dominées par des diatomées dont les principaux taxons sont *Leptocylindrus* sp., *Thalassiosira* sp., *Skeletonema* sp., *Chaetoceros* sp., *Rhizosolenia* sp., *Ditylum* sp., *Nitzschia* et *Pseudonitzschia* sp., *Schroederella* sp., *Thalassionema* sp. (Tableau 12 page 84).

La consommation des nutriments par le phytoplancton est suggérée par leur non-conservativité (relative faible corrélation avec la salinité, Fig. 15). Toutefois, si les concentrations de nitrates et silicates sont encore relativement élevées (Fig. 15, 16) et leur variance est en partie expliquée par la salinité (respectivement 57 et 51 %), les concentrations de phosphates ne sont pas du tout corrélées à la salinité (10 % de leur variance) et sont très variables, présentant à la fois des valeurs élevées à proximité de la côte et des teneurs déjà inférieures à 0,15 μM plus au large (Fig. 16).

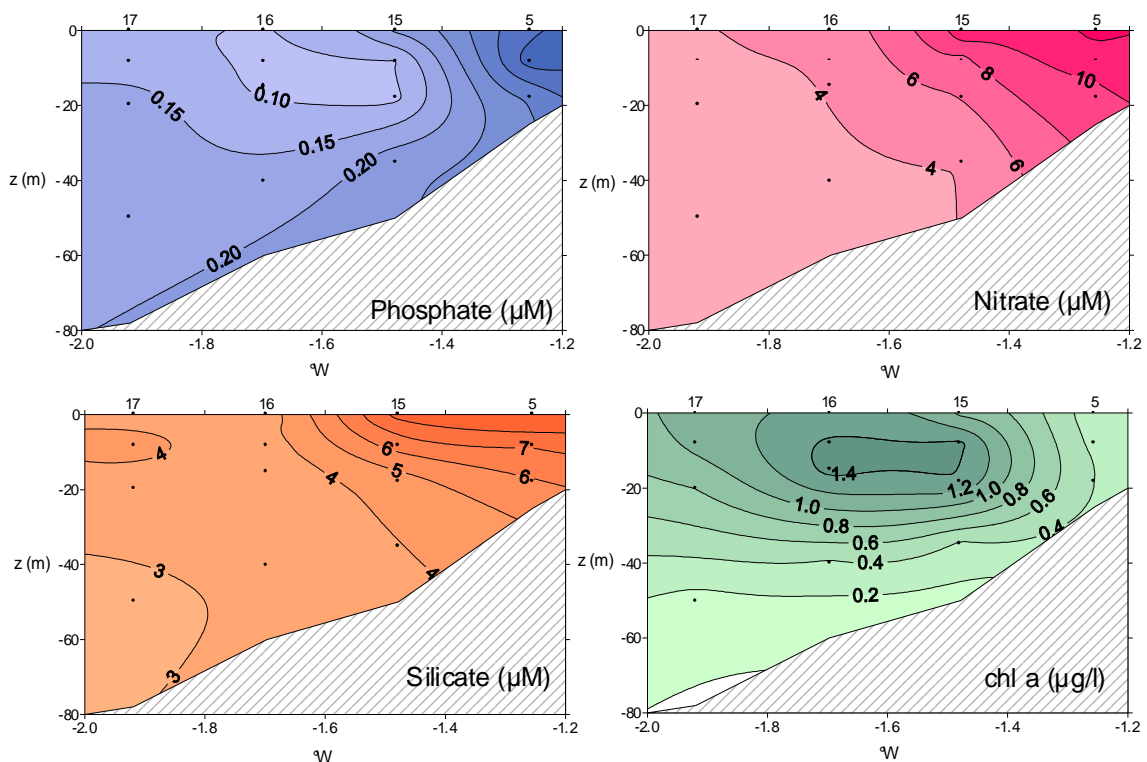


Fig. 16. Distribution verticale des concentrations de phosphates, nitrates, silicates et de la chl a le long de la radiale 3 (Fig. 2) en fin février 1999

Il apparaît donc que l'hypothèse de l'existence des blooms hivernaux n'est pas seulement vérifiée en 1998, qui aurait pu être une année « exceptionnelle » de ce point de vue, mais des

blooms phytoplanctoniques précoces ont également eu lieu en fin février 1999. Le scénario semble par conséquent reproductible. La distribution verticale de la chl *a* à cette période ne montrant pas encore de sédimentation marquée des cellules algales et les teneurs encore détectables des phosphates, même si certaines sont déjà faibles, indiquent que ces blooms sont en cours de développement et sont moins « avancés » que ceux observés en début mars 1998. Par ailleurs, les conclusions sur le déterminisme des blooms hivernaux de 1998 s'appliquent aux eaux halostratifiées du panache ($S < 34,5$) en 1999. En effet en recalculant l'irradiance incidente critique nécessaire au déclenchement de bloom dans les conditions de K ($0,25 \text{ m}^{-1}$) et de z_m ($10 \pm 8 \text{ m}$, $n = 11$) à cette période (abaques de la Fig. 12), il apparaît que celle-ci (57 W m^{-2}) est effectivement atteinte en février 1999 (75 W m^{-2} , Fig. 11). En revanche, les limites du modèle sont atteintes pour les eaux non stratifiées de salinité supérieure à 34,5.

2.3. Conclusion

L'hypothèse de l'existence de blooms hivernaux est validée en 1998 et l'est à nouveau en 1999. Ils sont dominés par des diatomées et ont de ce fait des caractéristiques similaires aux blooms printaniers « typiques » des eaux tempérées. Les phosphates sont effectivement les premiers nutriments à être partiellement (fin février 1999) puis entièrement (début mars 1998) consommés dans la couche de mélange. En fin janvier-début février 1994, Artigas (1997) avait déjà trouvé quelques valeurs de chl *a* « exceptionnellement élevées » atteignant jusqu'à $2,3 \mu\text{g l}^{-1}$ et 79 % de pigments non dégradés. Ces premiers indices confirmés par la reproductibilité de ces blooms en 1998 et en 1999 montrent leur récurrence dans le panache de la Gironde. Ils sont dus à l'apparition de courtes fenêtres anticycloniques en période hivernale interférant sur les processus physiques qui prévalent sur l'évolution et les caractéristiques du panache de la Gironde (régime des débits de la Gironde, orientation et force du vent) et, de façon ultime, sur l'évolution de K et/ou de z_m via l'halostratification de la colonne d'eau. La période d'apparition de ces fenêtres anticycloniques et l'importance de leur impact sur les processus physiques de la zone doivent expliquer les variations d'une année sur l'autre de la période d'occurrence des blooms hivernaux, leur durée, leur répartition spatiale et leur intensité.

3. Dynamique saisonnière des populations algales, mise en évidence de leur limitation par le phosphore et conséquences

3.1. Objectifs*

L'objectif de ce chapitre est triple : (1) étudier la dynamique saisonnière des populations phytoplanctoniques dans le panache de la Gironde (2) caractériser l'élément limitant leur croissance, le phosphore étant supposé être le principal élément limitant dans ces eaux, et (3) comprendre les conséquences de la limitation sur la structuration des communautés algales.

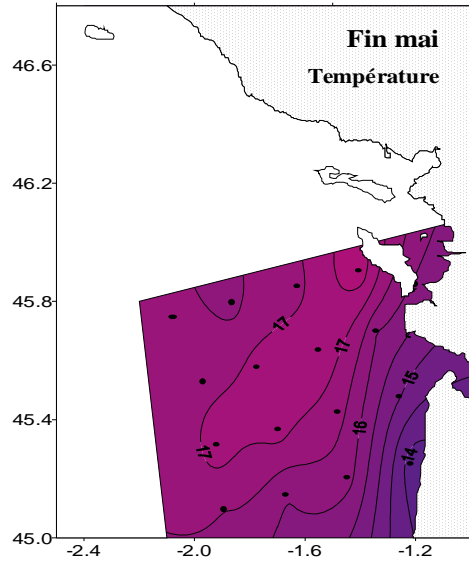
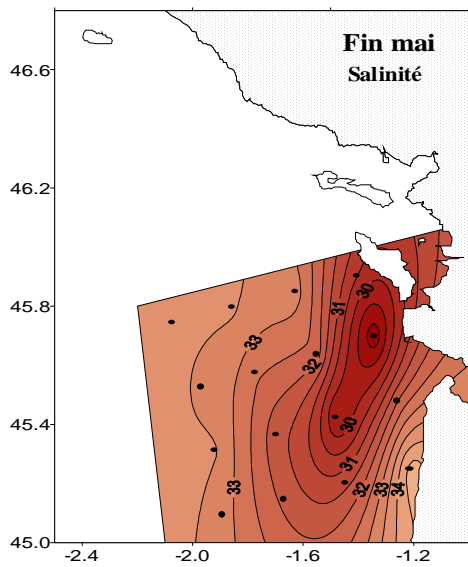
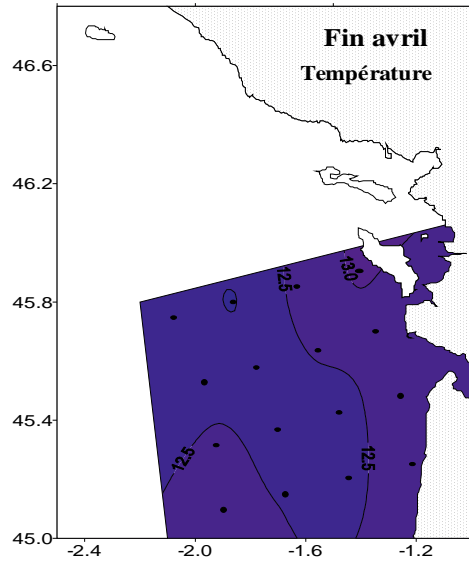
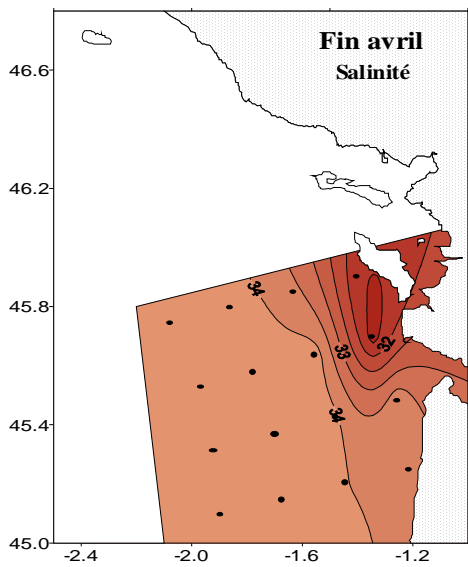
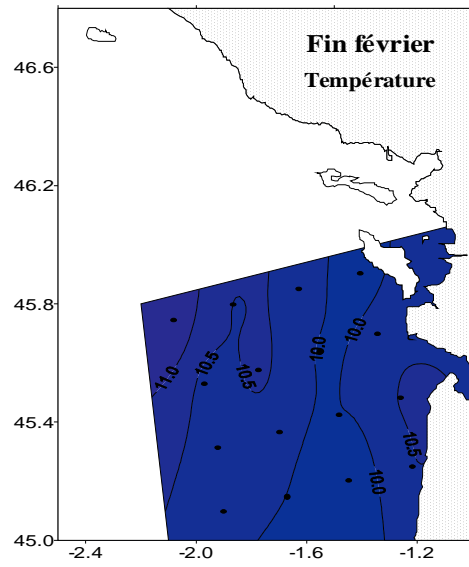
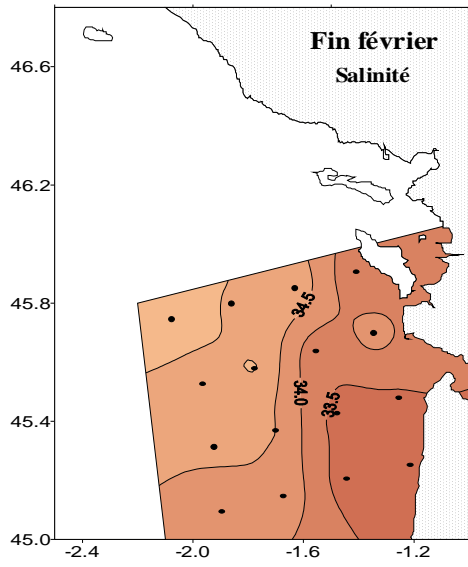
3.2. Résultats

L'étude de la dynamique saisonnière des populations phytoplanctoniques et de l'élément limitant leur croissance dans le panache de la Gironde a mis en évidence la distinction entre deux types d'eau : les eaux de salinité inférieure à 34,5 dites « girondines » (du réseau et des stations fixes) et les eaux de salinité supérieure à 34,5 dites « océaniques » (du réseau et des stations fixes). Leurs caractéristiques seront présentées séparément, même si les eaux « océaniques », recherchées initialement comme base de référence, ne sont représentées à certaines campagnes que par quelques stations (PLAGIA 2 et 3). Les stations de PEGASE situées aux accores du plateau continental et de salinité supérieure à 35,3 ont été englobées sous le terme eaux « océaniques » bien que leur situation géographique soit un peu particulière.

Pour reconstituer le cycle saisonnier, nous avons rappelé les principaux résultats des campagnes de janvier et de début mars 1998, déjà évoqués dans le chapitre précédent.

3.2.1. Caractéristiques hydrologiques

En période hivernale en 1998 (janvier et début mars), le panache de la Gironde longe la côte en direction du nord alors qu'à la fin du printemps (juin), il s'étend plus au sud et plus au large (Bergeron, comm. pers.) avec des températures beaucoup plus élevées (16,4-18,4 °C, Fig.3).



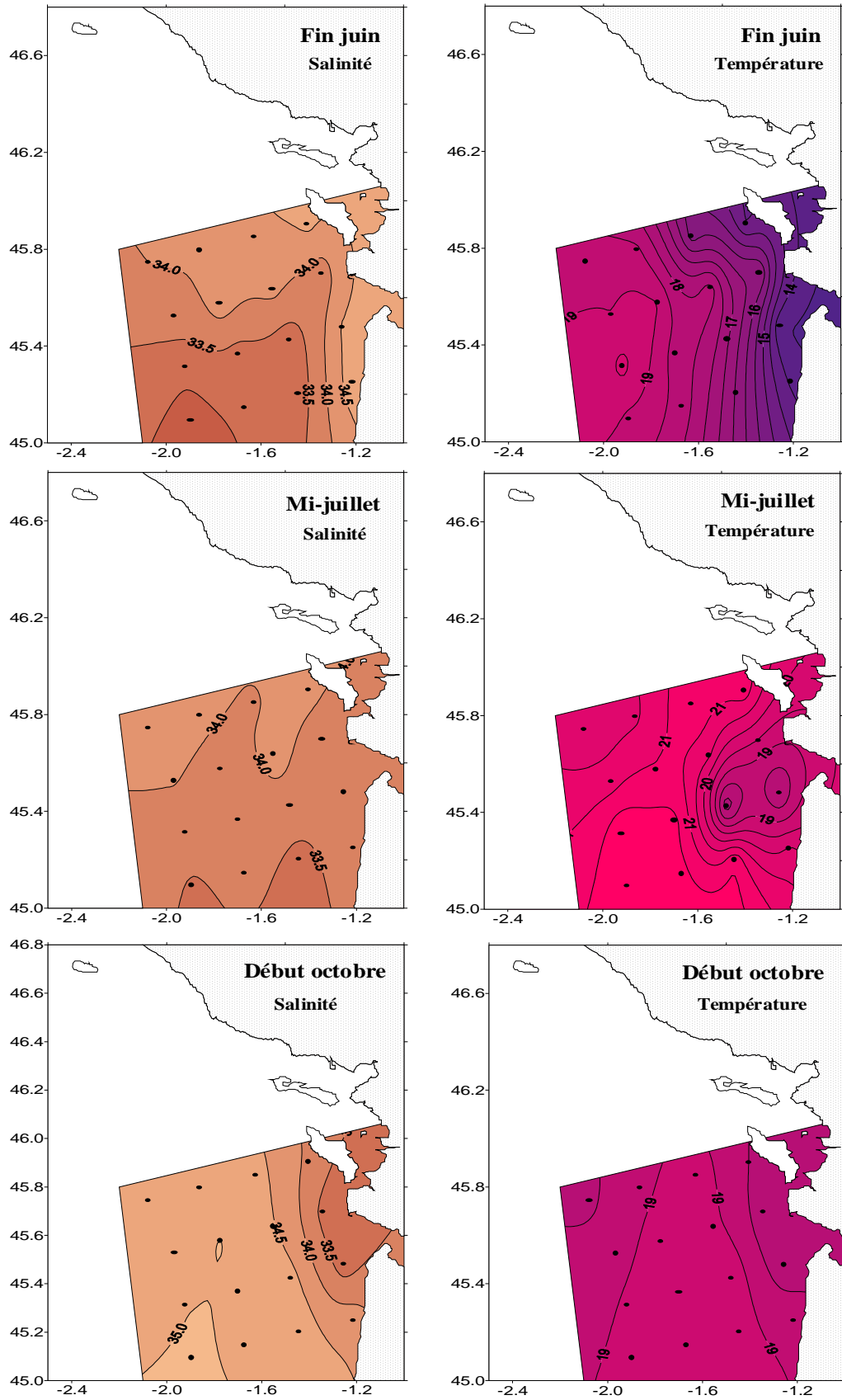


Fig. 17. Distribution spatiale de la salinité et la température (°C) de surface aux différentes campagnes de 1999

En 1999, l'extension sud et large du panache ainsi que de faibles gradients horizontaux de salinité sont observés dès la fin février, perdurent fin avril et se retrouvent avec un étalement des salinités encore plus prononcé fin juin et mi-juillet (Fig. 17). Entre temps, les fortes crues de la Gironde en mai (Fig. 10) ont provoqué l'apparition d'une importante dessalure dans le panache fin mai. En octobre les eaux les plus dessalées et l'isohaline 34,5 sont à proximité de l'embouchure. L'évolution de la température des eaux de surface est conforme au cycle saisonnier : augmentation progressive de fin février à mi-juillet puis diminution sensible début octobre (Fig. 17).

La structure physique verticale de la colonne d'eau a montré une évolution similaire en 1998 et en 1999 : la colonne d'eau est halostratifiée à partir de la fin d'hiver (début mars 1998 et fin février 1999) dans les eaux du panache les plus soumises aux apports de la Gironde (eaux « girondines ») (Fig. 4, 14) puis la stratification thermique s'installe à la fin du printemps (juin 1998 et à partir de fin mai 1999) et perdure en été dans les eaux « girondines » et « océaniques ». Début octobre les premières tempêtes automnales ont détruit toute stratification dans les eaux « girondines » alors que la thermocline des eaux « océaniques » qui s'est approfondie, perdure.

3.2.2. Nutriments

Comme on l'a vu au chapitre précédent en 1998, la relative abondance des sels nutritifs en janvier précède leur très nette diminution en début mars dans la couche de mélange, en particulier des phosphates, très souvent indétectables. En juin les sels nutritifs sont tous très peu concentrés dans la couche de mélange (Tableau 8) mais également dans le maximum profond de chl *a* présent dans les eaux « océaniques » (en moyenne 0,044 μM de phosphate, 1,1 μM d'azote minéral, 1,0 μM de silicate). En fin février 1999, les teneurs en nitrates et en silicates sont relativement élevées (Fig. 15, 16) alors que celles des phosphates, encore détectables, présentent déjà des valeurs faibles à certaines stations (Fig. 16). Le fait marquant après cette période hivernale est l'absence quasi systématique de phosphates dans la couche de mélange à chaque campagne printanière et estivale. Quant aux nitrates, ils sont particulièrement faibles plus tard dans l'année, en période estivale, dans la couche de mélange des eaux « girondines » (Tableau 8) et à un degré moindre dans le maximum profond de chl *a* ($2,0 \pm 2,0 \mu\text{M}$ fin juin et $1,6 \pm 2,7 \mu\text{M}$ mi-juillet). Les concentrations d'ammonium sont restées faibles durant les deux années, toutes périodes confondues. Enfin, les concentrations

de sels nutritifs augmentent à nouveau en début octobre dans les eaux « girondines » uniquement. Les rapports $\text{NO}_3:\text{Si}$ sont très faibles en période de fin de printemps-été et le sont encore début octobre dans les eaux « océaniques ».

	PO_4 μM	NO_3 μM	NH_4 μM	$\text{Si}(\text{OH})_4$ μM	$\text{NO}_3:\text{PO}_4$ at:at	$\text{N}_{\text{min}}:\text{PO}_4$ at:at	$\text{NO}_3:\text{Si}$ at:at	<i>n</i>
1998								
Panache turbide								
Janvier	0,586 ± 0,086	26,2 ± 3,7	1,7 ± 1,5	17,9 ± 3,3	47 ± 6	50 ± 8	1,4 ± 0,1	4 - 5
Début mars	0,215 ± 0,064	13,1 ± 1,5	0,2 ± 0,2	8,1 ± 2,2	67 ± 25	69 ± 26	1,7 ± 0,6	4
Eaux « girondines »								
Janvier	0,320 ± 0,087	9,9 ± 3,6	1,1 ± 1,0	7,5 ± 2,0	31 ± 9	36 ± 9	1,3 ± 0,2	17 - 19
Début mars	< 0,020	4,9 ± 2,6	0,1 ± 0,2	1,9 ± 1,0	> 100	> 100	2,4 ± 1,1	20 - 22
Juin	< 0,020	0,8 ± 0,5	0,3 ± 0,2	2,3 ± 0,6	-	-	0,4 ± 0,4	21 - 23
Eaux « océaniques »								
Janvier	0,213 ± 0,042	2,8 ± 0,5	0,9 ± 0,5	2,7 ± 1,0	14 ± 3	19 ± 3	1,2 ± 0,3	27 - 46
Début mars	0,034 ± 0,027	0,9 ± 1,2	0,1 ± 0,1	1,0 ± 0,7	> 100	> 100	0,8 ± 0,8	40
Juin	< 0,020	0,3 ± 0,3	0,2 ± 0,2	1,6 ± 0,5	-	-	0,3 ± 0,3	18
1999								
Eaux « girondines »								
Fin février	0,289 ± 0,236	9,8 ± 4,1	0,5 ± 0,3	6,2 ± 2,2	51 ± 33	55 ± 36	1,6 ± 0,4	19 - 21
Fin avril	< 0,020	4,3 ± 2,1	0,7 ± 0,3	1,9 ± 1,2	> 100	> 100	3,5 ± 3,1	45
Fin mai	< 0,020	6,6 ± 5,9	0,9 ± 0,7	3,2 ± 4,6	> 100	> 100	16 ± 30	18 - 22
Fin juin	< 0,020	1,3 ± 1,6	0,2 ± 0,1	3,3 ± 1,7	-	-	0,3 ± 0,3	10 - 26
Mi-juillet	< 0,020	0,5 ± 0,9	0,5 ± 0,3	3,6 ± 2,1	-	-	0,1 ± 0,2	32
Début octobre	0,284 ± 0,062	4,9 ± 2,5	1,1 ± 0,2	6,6 ± 1,7	17 ± 7	23 ± 7	0,7 ± 0,2	12
Eaux « océaniques »								
Fin février	0,127 ± 0,041	3,4 ± 1,0	0,4 ± 0,2	2,6 ± 0,9	30 ± 16	35 ± 18	1,5 ± 0,9	25 - 27
Fin avril	< 0,020	1,8 ± 0,6	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,3	> 100	> 100	2,7 ± 1,4	4
Fin mai	< 0,020	1,0 ± 0,3	1,0 ± 0,3	2,0 ± 1,0	> 100	> 100	0,6 ± 0,4	2
Début octobre	0,022 ± 0,031	0,2 ± 0,2	0,9 ± 0,3	1,6 ± 0,7	-	-	0,1 ± 0,1	43

Tableau 8. Valeurs moyennes (\pm écart-type) dans la couche de mélange des concentrations de nutriments (μM) et des rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$, $\text{N}_{\text{min}}:\text{PO}_4$ et $\text{NO}_3:\text{Si}$ en 1998 et en 1999. *n* représente le nombre d'observations. Les rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ et $\text{N}_{\text{min}}:\text{PO}_4$ n'ont pas été déterminés quand les nitrates et les phosphates étaient indétectables.

En conséquence, aussi bien en 1998 et en 1999, les rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ sont très élevés (souvent > 100) par rapport à celui de Redfield (16), excepté dans les eaux « océaniques » en janvier 1998 (14) et dans les eaux « girondines » en début octobre 1999 (17) (Tableau 8).

3.2.3. Chlorophylle *a*, production primaire et espèces phytoplanctoniques

Après avoir fortement augmenté entre janvier et début mars 1998, la chl *a*, la production primaire (concentrations et valeurs intégrées sur la couche euphotique) et la productivité (nombre d'assimilation AN) sont aussi très élevées dans les eaux « girondines » en juin 1998 (Tableau 9, 10). Dans les eaux « océaniques », les teneurs en chl *a* sont particulièrement faibles à cette période (Tableau 10), même en terme de valeurs intégrées qui prennent en compte le maximum profond de chl *a* ($0,50 \pm 0,12 \mu\text{g l}^{-1}$, $n = 7$). Mais la productivité est très élevée. En 1999, des teneurs élevées en chl *a* dans la couche de mélange sont mesurées en fin février sur tout le réseau et en fin mai dans les eaux « girondines ». Ces teneurs élevées se retrouvent fin juin et mi-juillet au niveau de la thermocline (respectivement en moyenne 2,56 et $1,42 \mu\text{g l}^{-1}$) puis diminuent en début octobre dans la couche de mélange (Tableau 10). La production à lumière saturante (P_m) est la plus élevée en fin février et en début octobre dans les eaux « girondines » avec une productivité (P_m^*) la plus importante en début octobre (Tableau 11). Toutefois, les valeurs obtenues en fin mai 1999 doivent être sous-estimées à cause d'un artefact de mesure (le niveau de lumière d'incubation fût moindre par rapport aux autres périodes, le système d'incubation des flacons n'ayant pas été disposé totalement en dessous de la source de lumière).

Le fractionnement en taille des microorganismes présente des distributions similaires de la chl *a* et de la production primaire (Fig. 18). On l'a vu, en 1998 les cellules algales microplanctoniques ($> 20 \mu\text{m}$) ont dominé le bloom hivernal (début mars) alors qu'elles étaient minoritaires ($< 30\%$) en janvier. En juin la contribution des cellules picoplanctoniques ($< 3 \mu\text{m}$) devient très importante, en particulier dans les eaux « océaniques ». En 1999, la chl *a* est aussi représentée en majorité par le microplancton pendant le bloom hivernal (Fig. 18) alors que sa contribution est faible ensuite au profit des cellules nanoplanctoniques ($3-20 \mu\text{m}$) dans les eaux « girondines » et picoplanctoniques dans les eaux « océaniques ». Le fractionnement de la production primaire à lumière saturante aboutit aux mêmes conclusions (Fig. 18). Les diatomées dominent les espèces phytoplanctoniques présentes au moment du bloom hivernal (Tableau 12) alors que les cellules identifiables au microscope optique (c'est à dire de taille supérieure à $10 \mu\text{m}$) sont essentiellement des dinoflagellés au printemps et en été

même si les diatomées sont encore bien représentées, fin mai et fin juin 1999 avec une dominance de *Rhizosolenia* sp. et mi-juillet 1999 avec une dominance de *Leptocylindrus* sp.. (Tableau 12).

	P_m mgC m ⁻³ h ⁻¹	P_m^* mgC mgChla ⁻¹ h ⁻¹
Eaux « girondines »		
Fin février	16,0 ± 5,8	7,6 ± 2,0
Fin avril	3,7 ± 1,9	6,8 ± 1,2
Fin mai	6,7 ± 3,1	7,1 ± 4,1
Début octobre	16,9 ± 1,8	15,6 ± 0,4
Eaux « océaniques »		
Fin février	5,7 ± 4,0	7,2 ± 1,8
Fin avril	2,6 ± 0,8	8,2 ± 2,9
Fin mai	2,2 ± 0,2	5,4 ± 1,6
Début octobre	1,6 ± 0,1	10,4 ± 4,5

Tableau 11. Moyenne (± écart-type) de la production (P_m) et de la productivité (P_m^*) à lumière saturante en 1999.

3.2.4. Biomasse et production bactérienne

La biomasse bactérienne est restée relativement constante à chaque période dans la couche de mélange avec des moyennes proches de $0,6 \times 10^6$ cellules ml⁻¹, à l'exception de quelques valeurs plus élevées en début octobre (Tableau 10). En terme de valeurs intégrées, le carbone bactérien est significativement le plus faible en janvier 1998 (Tableau 9). Entre janvier et début mars 1998, la production bactérienne a augmenté de façon spectaculaire (d'un facteur 10) puis elle est restée élevée en juin (Tableau 9). En 1999, elle est la plus élevée fin mai dans les eaux « girondines » et au printemps dans les eaux « océaniques ».

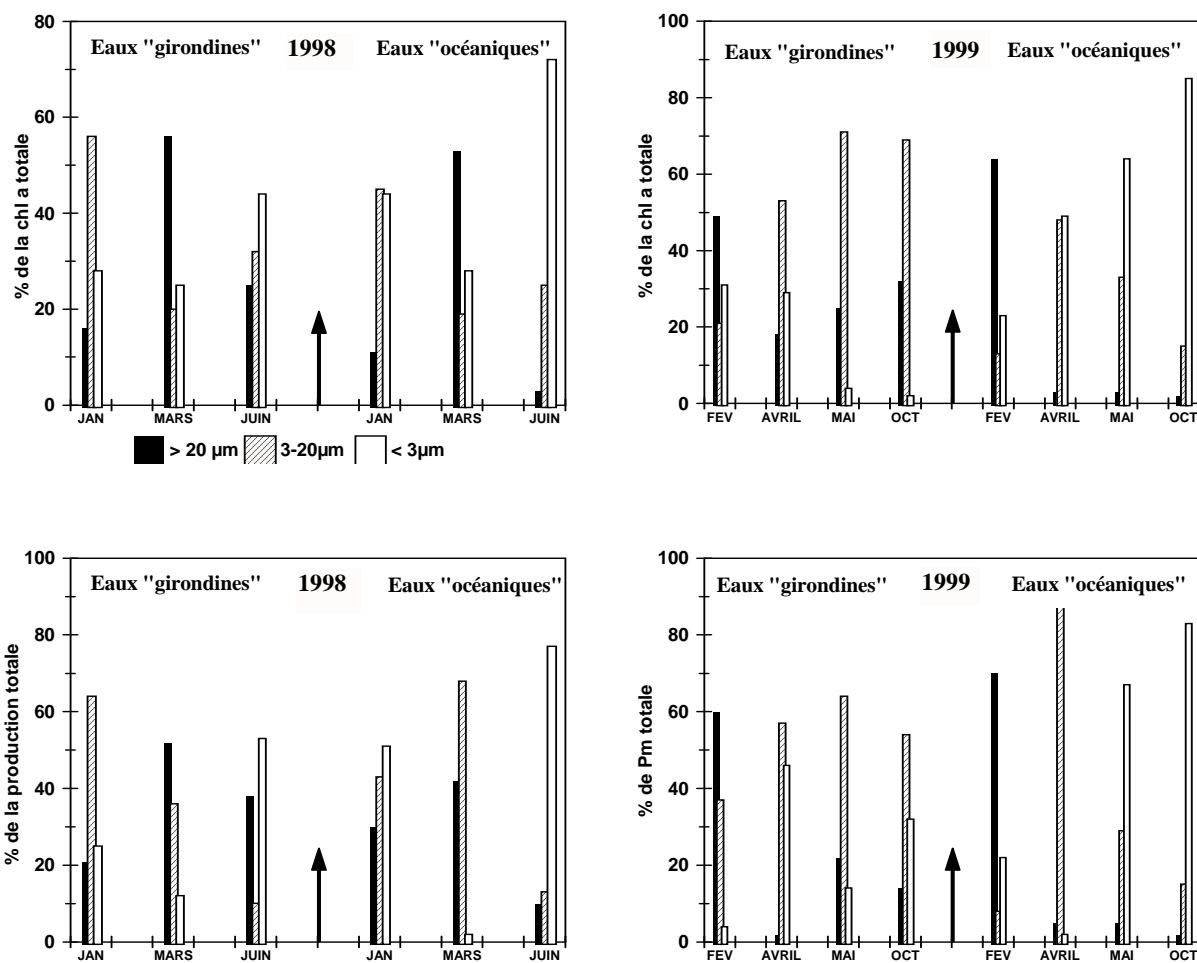


Fig. 18. Distribution de la chl *a*, de la production primaire réelle en 1998 ou à lumière saturante en 1999 suivant les classes de taille > 20 µm, 3-20 µm et < 3 µm

3.2.5. Matière organique particulaire

Dans les eaux « girondines », le POP augmente progressivement de janvier à juin 1998 et le COP et le NOP augmentent essentiellement entre début mars et juin (Tableau 10). Les mesures effectuées aux stations fixes en 1999 montrent des valeurs de POP, COP et NOP particulièrement élevées en fin mai dans ces mêmes eaux. Alors que les rapports C:N sont particulièrement élevés en 1998, les rapports N:P et C:P sont supérieurs chaque année aux valeurs respectives de Redfield (16 et 106). Dans les eaux « océaniques », les rapports C:N, N:P et C:P sont généralement élevés en 1998 et en 1999.

3.2.6. Temps de turnover du phosphate et paramètres cinétiques de l'assimilation

Sur toute la zone étudiée, les temps de turnover du phosphate (T_n) sont particulièrement longs en janvier 1998 (> 50 jours) puis diminuent de façon spectaculaire en début mars et en juin dans la couche de mélange (Fig. 19, 20). Dans les eaux « girondines », ils seraient inférieurs à 14,9 h en moyenne si l'on considère que les cinétiques d'assimilation du $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ étaient en phase de saturation après 7 à 10 heures d'incubation (Cf. page 34). En dessous de la couche de mélange où les concentrations de phosphate augmentent, les temps de turnover suivent une évolution parallèle et atteignent plus de 100 h, ce qui correspond cette fois-ci à leur valeur réelle puisqu'elle est bien supérieure à la durée d'incubation (Fig. 20). En 1999, les temps de turnover dans la couche de mélange ont été déterminés précisément et sont très faibles au printemps (1,1 h et 1,2 h en fin avril et fin mai, Fig. 19). Ils sont très longs là où les teneurs en phosphates sont relativement élevées (en fin février et début octobre).

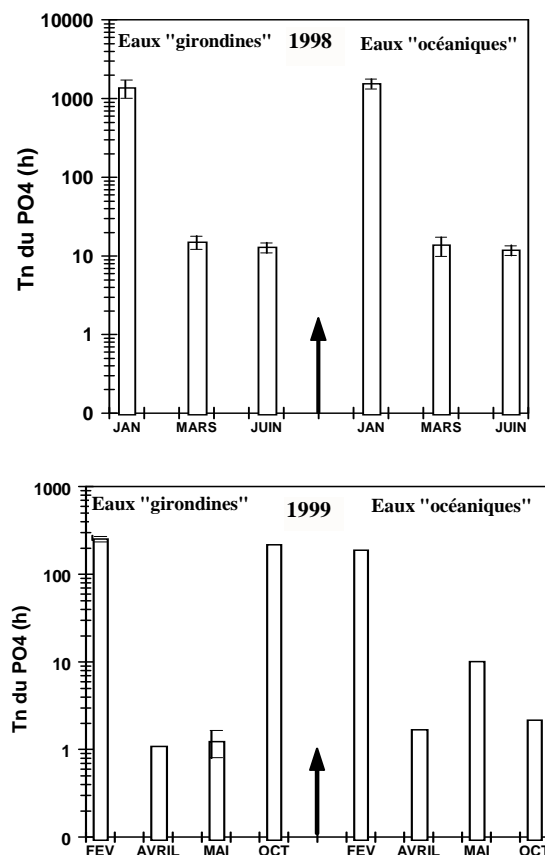


Fig. 19. Moyenne du temps de turnover du phosphate (T_n) dans les eaux « girondines » et « océaniques » en 1998 et en 1999.

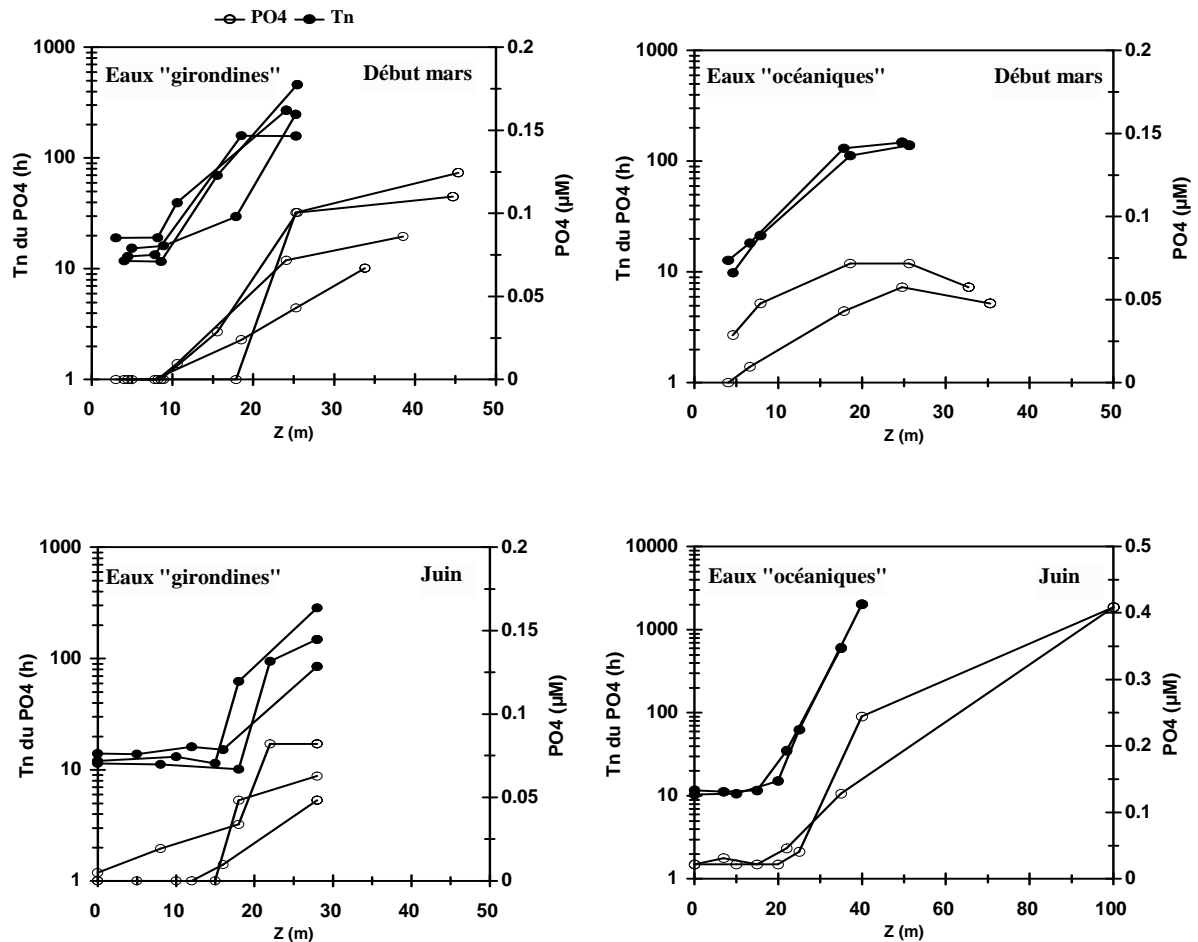


Fig. 20. Profils verticaux des concentrations et du temps de turnover du phosphate en début mars et en juin 1998

Le même schéma apparaît en 1998 et en 1999 quant à la contribution des microorganismes de taille supérieure ou inférieure à $1 \mu\text{m}$ à l'assimilation des phosphates dans la couche de mélange. Celle-ci est dominée par les algues (50 à 70 %), associées à la fraction supérieure à $1 \mu\text{m}$, quand les phosphates sont en concentrations élevées (janvier 1998, fin février 1999, début octobre 1999 dans les eaux « girondines uniquement) et elle est très largement dominée par les bactéries (70 à 90 %), associées à la fraction $0,2-1 \mu\text{m}$, quand les phosphates sont quasi indétectables (Fig. 21). En dessous de la couche de mélange (Fig. 22), même si elle est souvent encore dominante, la contribution des bactéries tend à diminuer au profit de celle des algues, en particulier des algues supérieures à $3 \mu\text{m}$.

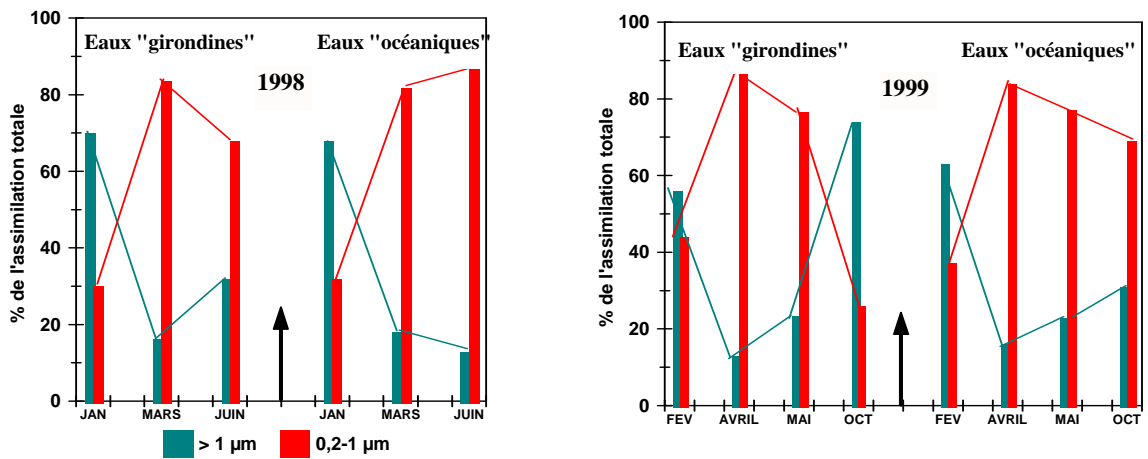


Fig. 21. Contribution moyenne (%) des classes de taille $> 1 \mu\text{m}$ et $0,2-1 \mu\text{m}$ à l'assimilation du phosphate en 1998 et en 1999

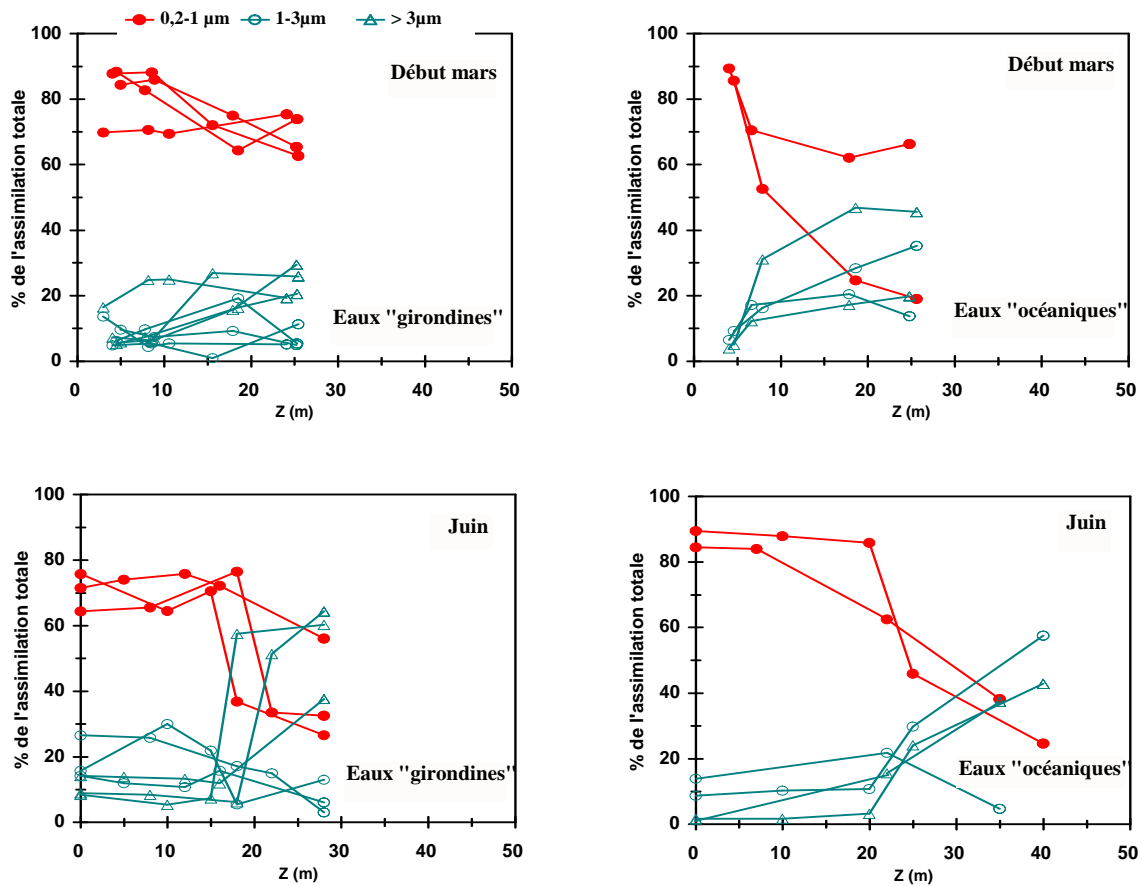


Fig. 22. Profils verticaux des contributions (%) des classes de taille $> 1 \mu\text{m}$ et $0,2-1 \mu\text{m}$ à l'assimilation du phosphate en début mars et en juin 1998

Les flux d'assimilation des phosphates (V_{po_4}) en fonction de la concentration de phosphate ajouté sont bien décrits par l'équation de Michaelis & Menten en fin mai 1999 avec toutefois une grande variabilité pour la fraction 0,2-1 μm (Fig. 23). Cette fraction de taille présente des K_t+S_n plus faibles (2-38nM) que ceux de la fraction supérieure à 1 μm (56-90 nM) et des V_m similaires ou plus faibles (1,6-4,9 nM h^{-1} contre 1,3-44 nM h^{-1}) (Tableau 13).

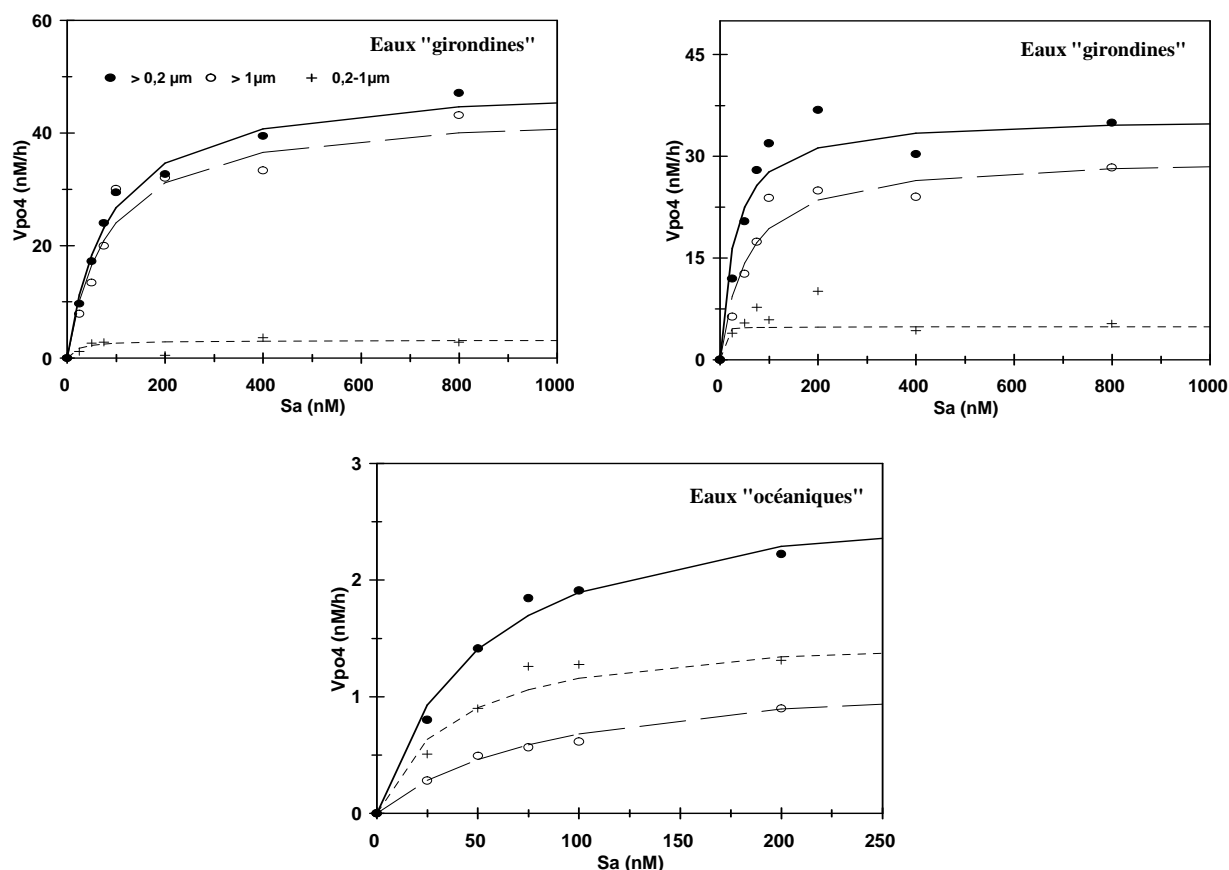


Fig. 23. Flux d'assimilation du phosphate (V_{po_4}) des fractions $> 0,2 \mu\text{m}$, $> 1 \mu\text{m}$ et $0,2-1 \mu\text{m}$ en fonction des concentrations de phosphate ajouté (S_a) pour des eaux « girondines » et « océaniques » en fin mai 1999. Les courbes correspondent à l'ajustement des données à l'équation de Michaelis & Menten pour les différentes fractions.

		$> 0,2 \mu\text{m}$	$0,2-1 \mu\text{m}$	$> 1 \mu\text{m}$
Eaux « girondines »	$K_t + S_n$	85 ± 9	20 ± 13	83 ± 17
	V_m	49 ± 1	$3,2 \pm 0,4$	44 ± 2
Eaux « girondines »	$K_t + S_n$	30 ± 8	2 ± 5	56 ± 10
	V_m	36 ± 2	$4,9 \pm 0,3$	30 ± 1
Eaux « océaniques »	$K_t + S_n$	53	38	90
	V_m	2,9	1,6	1,3

Tableau 13. Paramètres cinétiques (K_t+S_n en nM, V_m en nM h^{-1}) de l'assimilation du phosphate dans des eaux « girondines » et « océaniques » en fin mai 1999.

3.2.7. Activités des phosphatases alcalines liées aux particules

Le même schéma d'évolution des activités phosphatasiques liées aux particules est apparu en 1998 et en 1999 dans les eaux « girondines » (Fig. 24) : les activités particulaires ($> 0,2 \mu\text{m}$) sont quasiment multipliées par 10 entre l'hiver (en moyenne 2 nM h^{-1} en 1998 et en 1999) et la fin d'hiver-début du printemps (14 nM h^{-1} en 1998 et 19 nM h^{-1} en 1999) et décuplent encore entre le début et la fin du printemps (128 et 176 nM h^{-1}). Les activités sont ensuite retombées à un faible niveau en début octobre 1999. Dans les eaux « océaniques », les activités sont moindres par rapport aux eaux « girondines » en fin de printemps. Elles sont particulièrement faibles en juin 1998.

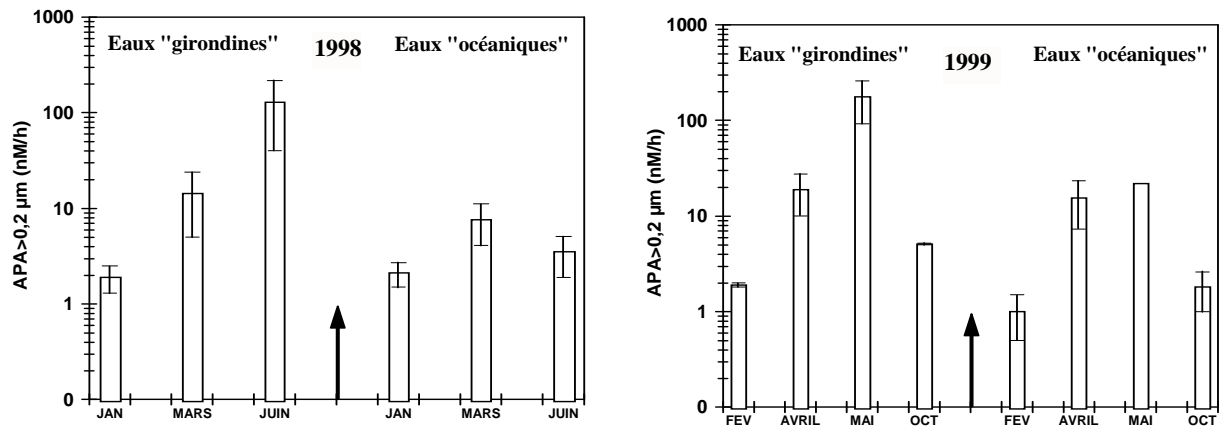


Fig. 24. Activités phosphatasiques particulaires ($> 0,2 \mu\text{m}$) dans la couche de mélange des eaux « girondines » et « océaniques » en 1998 et en 1999

3.2.8. Expériences d'enrichissement

3.2.8.1. Réponses algales

Les réponses aux enrichissements en phosphate sont très différentes suivant qu'il s'agit des eaux « girondines » ou des eaux « océaniques » (Fig. 25). Dans ces dernières, l'évolution de la chl *a* et de la production primaire n'ont jamais montré de différences significatives dans les contrôles et dans les échantillons enrichis. Dans les eaux « girondines », la chl *a* et la production primaire ont augmenté de façon significativement plus importante dans les échantillons enrichis en phosphate par rapport aux contrôles en fin février, fin avril et fin mai avec un maximum (considérant notre pas d'échantillonnage) à respectivement 6, 4 et 2 jours après le début de l'incubation (Fig. 25). Les teneurs en phosphate diminuent de façon concomitante dans les échantillons enrichis.

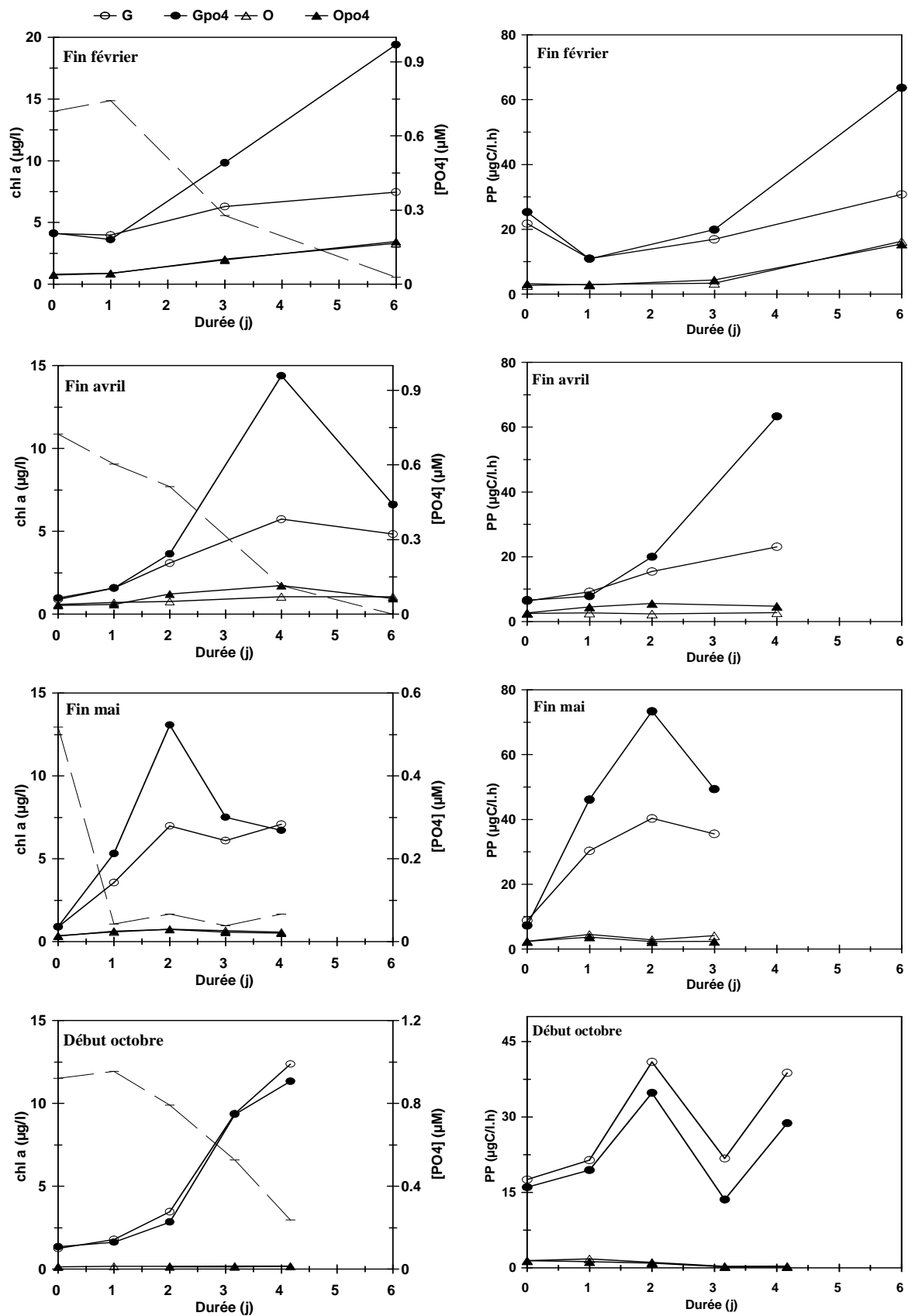


Fig. 25. Evolution de la chl *a* et de la production primaire potentielle dans le contrôle (symbole vide) et dans l'échantillon enrichi en phosphate (symbole plein) au cours des expériences d'enrichissement conduites de fin février à début octobre 1999 dans des eaux « girondines » (G) et « océaniques » (O). L'évolution des phosphates dans l'échantillon enrichi en phosphate est figurée en pointillé.

A la mi-juillet une augmentation relative de la chl *a* par rapport au contrôle est observée dans l'échantillon enrichi en phosphate et ammonium uniquement (Fig. 26). Enfin, début octobre, la chl *a* et la production primaire ont montré une augmentation exponentielle en 4 jours à la fois dans le contrôle et dans l'échantillon enrichi en phosphate (Fig. 25). La diminution brusque de la production primaire à environ 3 jours d'incubation est inexplicée. Si des réplicats d'enrichissement n'ont pas été réalisés, la différence entre contrôle et échantillon enrichi en terme de chl *a* et de production primaire est apparue généralement à plusieurs temps d'incubation. La variance de la durée d'obtention du maximum de chl *a* en fin février, fin avril, fin mai et début octobre est essentiellement expliquée par la température (coefficient de détermination r^2 de 0,78).

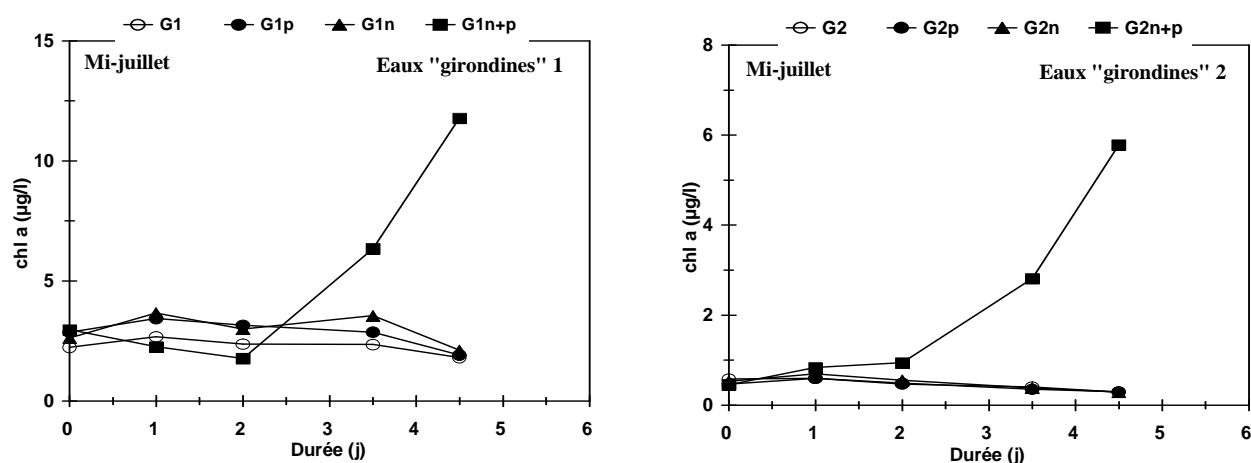


Fig. 26. Evolution de la chl *a* dans le contrôle (symbole vide) et dans les échantillons enrichis en PO_4 (p), en NH_4 (n) et en NH_4+PO_4 (n+p) au cours des expériences d'enrichissement conduites en mi-juillet 1999 dans deux eaux « girondines », G1 (salinité de 33,9) et G2 (salinité de 34,4).

3.2.8.2. Réponses bactériennes

La biomasse et la production bactérienne ont augmenté de façon significativement plus importante dans les échantillons enrichis en phosphate par rapport aux contrôles en fin mai seulement, à 12 heures d'incubation avec un maximum à 1 jour d'incubation et dans les eaux « girondines » uniquement (Fig. 27, 28). Le même signal est observé dans l'eau préfiltrée sur $1 \mu\text{m}$ à 2 jours d'incubation. Dans les autres cas, les différences sont peu ou ne sont pas marquées.

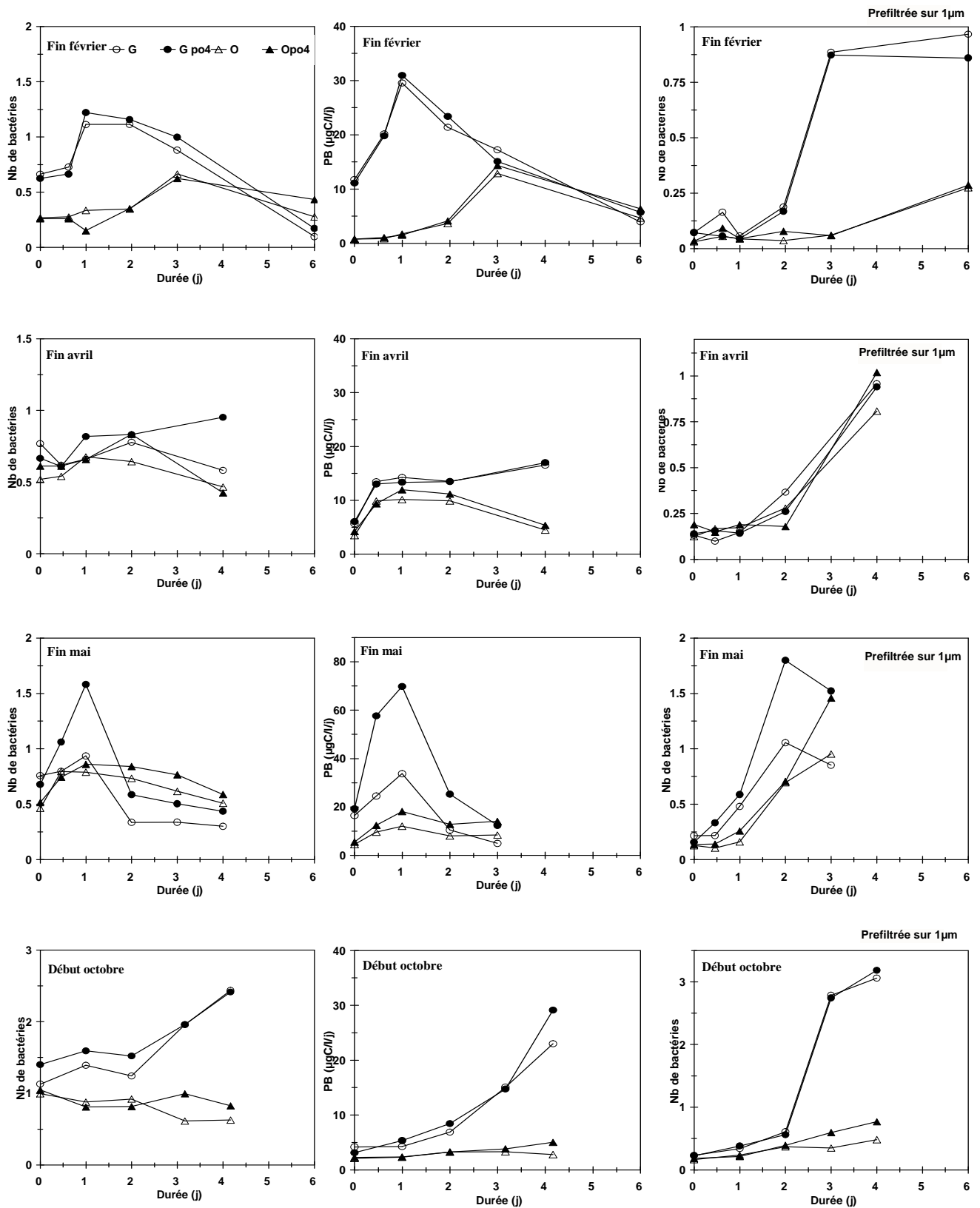


Fig. 27. Evolution de la biomasse bactérienne ($\times 10^6$ cellules ml^{-1}) et de la production bactérienne ($\mu\text{gC l}^{-1} \text{j}^{-1}$) dans le contrôle (symbole vide) et dans l'échantillon enrichi en PO_4 (symbole plein) de l'eau entière ou préfiltrée sur $1\mu\text{m}$ au cours des expériences d'enrichissement conduites de fin février à début octobre 1999 dans des eaux « girondines » (G) et « océaniques » (O)

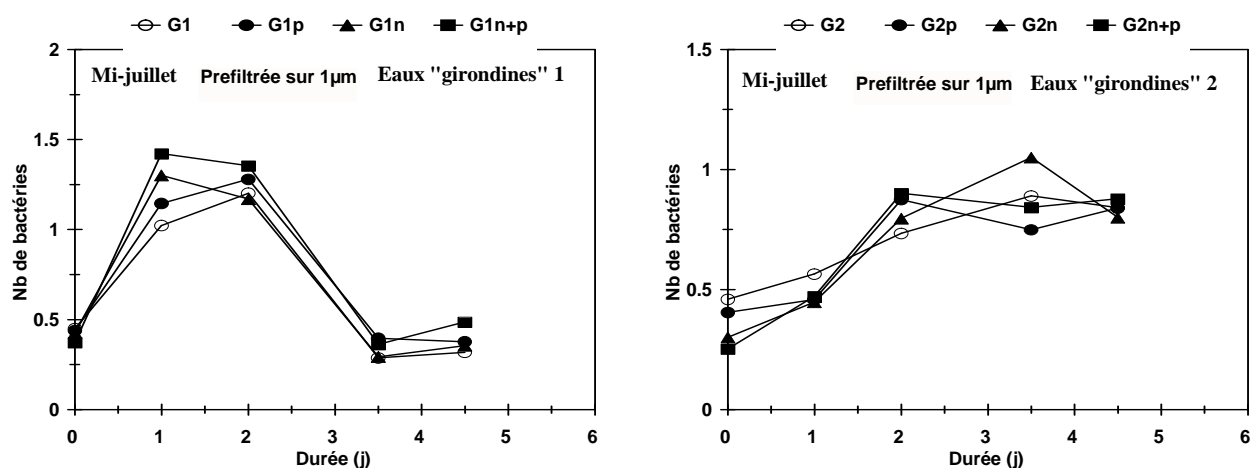


Fig. 28. Evolution de la biomasse bactérienne ($\times 10^6$ cellules ml^{-1}) dans le contrôle (symbole vide) et dans les échantillons d'eau préfiltrée sur $1 \mu\text{m}$ enrichis en PO_4 (p), en NH_4 (n) et en NH_4+PO_4 (n+p) au cours des expériences d'enrichissement conduites en mi-juillet 1999 dans deux eaux « girondines », G1 (salinité de 33,9) et G2 (salinité de 34,4).

3.3. Discussion

3.3.1. Dynamique des populations phytoplanctoniques

La dynamique de la biomasse phytoplanctonique sur le plateau continental Sud Gascogne est marquée par l'occurrence de deux blooms majeurs : le bloom hivernal qui se développe dans le panache de la Gironde et dans les eaux océaniques atlantiques ($S > 35,5$) adjacentes et le bloom printanier observé en juin 1998 et fin mai 1999 dans les eaux de panache de salinité inférieure à 34,5 et dont les teneurs en chl a , COP, NOP et POP dans la couche de mélange étaient les plus élevées de toutes nos investigations (Tableau 10). Alors que le bloom précoce est engendré par la présence de fenêtres anticycloniques en période hivernale, le bloom printanier est précédé à la fois en 1998 et en 1999 de périodes de crues de la Gironde parmi les plus importantes de l'année avec $3770 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ atteint début mai 1998 et $3240 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ mesuré quelques jours avant PLAGIA 3 (Fig. 10). Cette configuration s'était déjà présentée dans le cas des blooms printaniers de mai 1993 et mai 1994, si l'on superpose les résultats d'Artigas (1997) avec les données respectives de débits fluviaux présentés par Lazure & Jegou (1998) et Hermida (1997). L'enrichissement du plateau continental en sels nutritifs apportés par les

crues pourrait être à l'origine de ces blooms printaniers et leur occurrence dans la zone du panache la plus soumise aux apports girondins tend à le confirmer. Les investigations de Herbland et al. (1998) et Michel et al. (2000) dans les eaux estuariennes girondines respectivement en mai 1995 et mai 1997 vont dans le même sens : les concentrations élevées de phosphates et de nitrates qu'ils mesurent dans ces eaux suggèrent qu'ils ne sont pas consommés dans l'estuaire et seraient par conséquent transportés sur le plateau continental. Le bloom automnal généralement rencontré dans les écosystèmes côtiers tempérés de l'Atlantique Nord (Longhurst 1998, Cebrian & Valiela 1999) n'a pas été enregistré en début octobre 1999 ni antérieurement en septembre 1992 et en octobre 1993 (Artigas 1997) mais il a pu se développer postérieurement à nos investigations.

La contribution du carbone algal au carbone organique particulaire dans la zone euphotique (calculé à l'aide du rapport C:chl *a* de 50:1 que l'on admet constant, même s'il est bien évident qu'il a pu varier) est la plus importante en période de bloom où elle atteint entre 19 et 53 % (Fig. 29). Cette contribution est similaire à celle observée au cours des blooms de mai 1994 (Artigas 1997) et mai 1995 (Herbland et al. 1998). Le reste de l'année, le carbone phytoplanctonique et bactérien totalisent moins de 20 % du COP, celui-ci étant par conséquent essentiellement constitué de matériel détritique. La biomasse bactérienne moyenne rencontrée en 1998 et en 1999, comprise entre 0,4 et 1,1 x 10⁶ cellules ml⁻¹ (Tableau 10) et incluse dans la gamme de valeurs précédemment obtenues dans le panache de la Gironde (0,2-6,7 10⁶ cellules ml⁻¹, Artigas 1997) est généralement inférieure à la biomasse phytoplanctonique en terme de carbone (Fig. 29), une caractéristique des eaux mésotrophes à eutrophes par rapport aux eaux oligotrophes (Cho & Azam 1990). Toutefois, elle équivaut en début d'hiver et dans les eaux « océaniques » au printemps à environ la moitié du carbone phytoplanctonique, montrant ainsi l'importance du compartiment bactérien à certaines périodes de l'année en milieu côtier ouvert tel que sur le plateau continental Sud Gascogne (Artigas 1998, Simon et al. 1992).

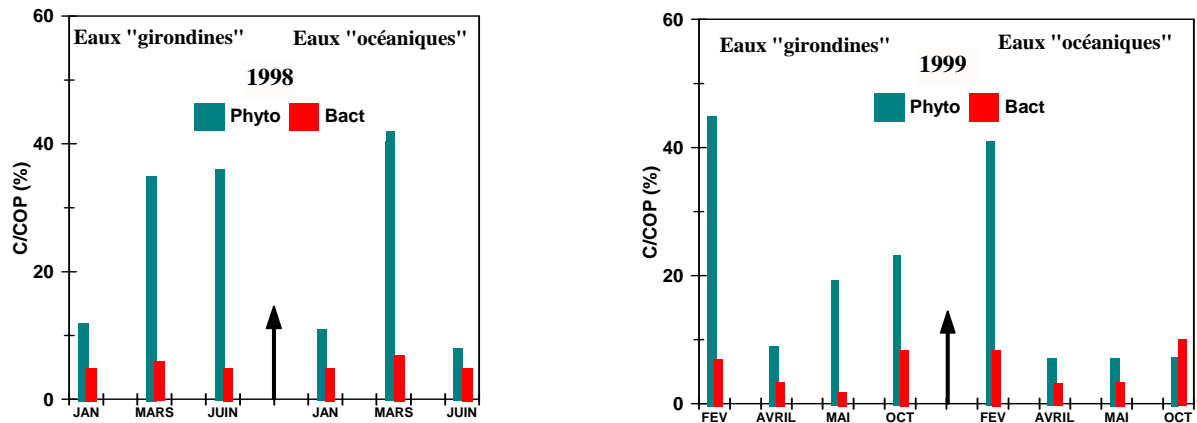


Fig. 29. Moyenne des valeurs intégrées sur la zone euphotique des contributions du carbone phytoplanctonique et bactérien au carbone organique particulaire en 1998 et en 1999

3.3.2. Mise en évidence et évolution saisonnière de la limitation de la croissance algale par le phosphore

3.3.2.1. Les eaux « girondines »

Hiver

La limitation précoce des blooms hivernaux de 1998 par le phosphore est mise en évidence par le recoupement de plusieurs indices (Tableau 14) : les très faibles concentrations de phosphate mesurées dans la couche de mélange en début mars, souvent indétectables (< 20 nM), les rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ et $\text{N}_{\text{min}}:\text{PO}_4$ élevés, typiquement > 100:1, par rapport aux besoins moyens des algues d'après Redfield (16), les faibles temps de turnover du phosphate (< 14,9 h) et l'augmentation d'un facteur 10 de l'activité phosphatasique particulaire entre janvier et début mars. Les temps de turnover du phosphate sont fréquemment utilisés comme des indices d'une limitation en phosphore des communautés planctoniques microbiennes car ils intègrent les effets à la fois des teneurs en phosphates extérieures, internes aux cellules et de la biomasse (Lean et al. 1987). Des temps de turnover courts indiquent une faible disponibilité en phosphate par rapport aux besoins des microorganismes alors qu'inversement des temps de turnover longs suggèrent un excès des apports par rapport aux besoins des microorganismes (Fisher et al. 1992). L'APA est classiquement utilisée comme un indicateur d'une déficience

physiologique du phytoplancton en phosphore (Fitzgerald & Nelson 1966, Gage & Gorham 1985, Thingstad et al. 1993) puisqu'elle indique le recours à l'hydrolyse du POD pour acquérir le phosphore, source plus coûteuse en énergie pour les algues.

	PO ₄	N _{min}	N _{min} :PO ₄	N:P, C:P	T _n (h)	APA	Exp. d'enrichi.
Eaux « girondines »							
1998							
Début mars	P	non N	P	P	P	P	*
Juin	P	N	P+N	P	P	P	*
1999							
Fin février	P	non N	P	P	non P	non P	P
Fin avril	P	non N	P	P	P	P	P
Fin mai	P	non N	P	P	P	P	P
Fin juin	P	N	P+N	*	*	*	*
Mi-juillet	P	N	P+N	*	*	*	P+N
Début octobre	non P	non N	non P	P	non P	non P	non P, non N
Eaux « océaniques »							
1998							
Début mars	P	N	P	P	P	P	*
Juin	P	N	P+N	P	P	non P	*
1999							
Fin février	P	non N	P	P	non P	non P	non P ou P+?
Fin avril	P	N	P	P	P	P	non P ou P+?
Fin mai	P	N	P	P	P	P	non P ou P+?
Début octobre	P	N	P+N	P	P	non P	non P ou P+?

Tableau 14. Orientation des indicateurs de limitation de la croissance algale dans le sens d'une limitation par le phosphore (P), par l'azote (N), par le phosphore et l'azote (P+N) ou d'une non-limitation par l'un ou l'autre (non P ou non N) en 1998 et 1999. * non réalisé

Dans le panache de la Gironde, temps de turnover du phosphate et APA sont effectivement de bons indicateurs de la disponibilité en phosphate (Fig. 30). En effet 66 % de la variance des temps de turnover du phosphate, toutes données de 1998 et 1999 confondues (eaux « girondines » et « océaniques », surface et fond), est expliquée par la concentration de phosphate et une relation inverse de type hyperbolique existe entre l'APA et la concentration de phosphate (Fig. 30), ce qui est classiquement obtenu dans des environnements limités en phosphate pendant une partie de l'année (Berman 1970, Chrost et al. 1984, Chrost & Overbeck 1987, Siuda & Chrost 1987, Ammerman 1991, Nausch 1998).

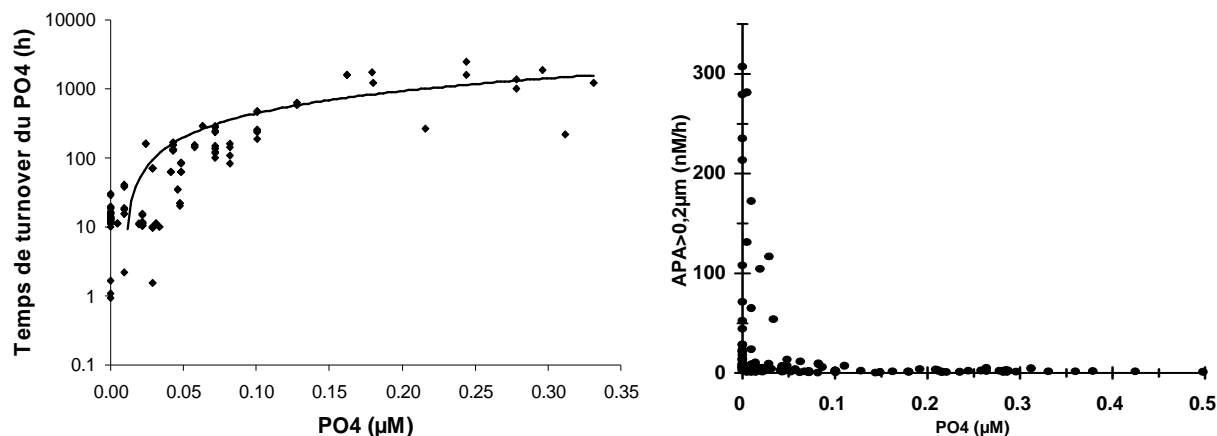


Fig. 30. Relation entre le temps de turnover du phosphate représenté en échelle log, l'APA particulaire et la concentration de phosphate toutes périodes et profondeurs confondues en 1998 et en 1999. Le coefficient de détermination de la corrélation linéaire de la première relation est de 0,661.

Pendant les blooms hivernaux de fin février 1999, de faibles teneurs en phosphate ($< 0,1 \mu\text{M}$) ainsi que des rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ et $\text{N}_{\text{min}}:\text{PO}_4$ élevés sont déjà mesurés. La croissance algale est stimulée lorsqu'un ajout de phosphate est effectué par rapport à un contrôle en 6 jours (Fig. 25). Toutefois les longs temps de turnover du phosphate (~ 10 jours) et les faibles activités phosphatasiques particulaires ($1,9 \text{ nM h}^{-1}$ en moyenne) n'indiquent pas une faible disponibilité en phosphate. Il apparaît que les blooms hivernaux n'ont pas encore épuisé le stock de phosphate mais que celui-ci, contrairement aux autres sels nutritifs, n'est déjà plus suffisant pour supporter une croissance algale pendant 6 jours en bioessai.

Printemps

Même si le plateau continental est enrichi en phosphate de façon continue par les apports girondins et notamment en période de crue, la croissance phytoplanctonique est limitée par le phosphore au printemps (fin avril, fin mai 1999) (Tableau 14). Les rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$, $\text{N}_{\text{min}}:\text{PO}_4$, $\text{N}:\text{P}$ et $\text{C}:\text{P}$ dans les particules sont en effet supérieurs à ceux de Redfield (16 et 106), les temps de turnover du phosphate sont particulièrement faibles (1,1, 1,2 h), l'APA très élevée (19 et 176 nM h^{-1}) et la croissance algale est stimulée dans l'échantillon enrichi en phosphate (Fig. 25). Ces faibles valeurs de temps de turnover du phosphate sont tout à fait typiques de celles rencontrées en eaux côtières en condition de limitation par le phosphore (Thingstad et al. 1993, 1998, Dolan et al. 1995) même si elles restent néanmoins plus élevées

qu'en eaux douces (Tableau 15). Les temps très courts obtenus en eaux estuariennes (Fisher et al. 1992) doivent en partie s'expliquer par des biomasses plus élevées alors qu'à l'inverse les temps très longs mesurés dans le gyre subtropical du Pacifique Nord et associés à une limitation par le phosphore sont attribuables à de très faibles biomasses (Sorokin 1985, Björkman et al. 2000). En condition de non-limitation par le phosphore, les temps de turnover sont dans tous les cas très longs (Tableau 15).

Eté

En période estivale, fin juin et mi-juillet 1999, la croissance algale pourrait être contrôlée par la disponibilité à la fois en phosphore mais aussi en azote dans la couche de mélange et à un degré moindre au niveau du maximum profond de chl *a* : les nitrates ont diminué de façon spectaculaire de fin mai (6,6 μM) à fin juin (1,3 μM) puis mi-juillet (0,5 μM) dans la couche de mélange (Tableau 8) approchant la constante de demi-saturation de leur assimilation par les dinoflagellés (0,5 μM ; Kudela & Cochlan 2000), populations dominantes à cette période (Tableau 12). Pendant le même temps, les rapports $\text{NO}_3:\text{Si}$ ont chuté de 16 (de $1,9 \pm 1,4$, $n = 17$ si l'on exclut quelques valeurs très élevées) à 0,3 et 0,1 et sont aussi faibles au niveau du maximum profond de chl *a* (0,5 et 0,4). Par ailleurs, l'addition combinée de NH_4+PO_4 a entraîné une augmentation relative de la chl *a* par rapport au contrôle alors que les additions de NH_4 ou PO_4 seul n'ont pas eu cet effet (Fig. 25). Les faibles concentrations de phosphates, en azote minéral (1,1 μM) et les faibles rapports $\text{NO}_3:\text{Si}$ (0,4) en juin 1998 indiquent également une faible disponibilité en azote et phosphore.

Automne

En début octobre 1999, les premières tempêtes automnales ont détruit la stratification thermohaline dans ces eaux et sont responsables d'un enrichissement en sels nutritifs dans des rapports équilibrés pour la croissance algale ($\text{NO}_3:\text{PO}_4 = 17$ et $\text{NO}_3:\text{Si} = 0,7$, Tableau 8) et en quantité suffisante pour supporter une croissance algale en 4 jours en bioessai (Fig. 25). Les longs temps de turnover du phosphate (217 h) et les faibles APA sont des indices supplémentaires suggérant que le phosphore n'est plus limitant à cette période.

Conclusion

Nos résultats confirment d'une part l'hypothèse d'une limitation des blooms hivernaux par le phosphore et d'autre part, les résultats antérieurs de Herbland et al. (1998) d'une limitation des blooms printaniers par le phosphore et de la croissance algale printanière en général. Par ailleurs nos investigations en période estivale indiquent une évolution vers une limitation à la fois en phosphore et en azote, limitation qui cesse après les premières tempêtes automnales qui rétablissent l'équilibre nutritif des eaux. Les faibles teneurs en silicate en début mars 1998 et fin avril 1999 ($1,9 \mu\text{M}$) proches de la constante de demi-saturation de leur assimilation ($2 \mu\text{M}$, Del Amo & Brzezinski 1999) doivent être aussi limitantes pour la croissance des diatomées. Cette limitation pourrait être en partie responsable de l'évolution des populations algales dominées par les diatomées au moment du bloom hivernal vers des communautés dominées par les dinoflagellés au printemps (même si certaines espèces de diatomées sont encore présentes) et plus généralement dominées par des petites formes, comme cela a été montré dans d'autres écosystèmes côtiers (Conley & Malone 1992, Fisher et al. 1992, Del Amo et al. 1997).

3.3.2.2. Les eaux « océaniques »

Dans les eaux « océaniques », une faible disponibilité en phosphate est également mise en évidence à chaque période excepté en hiver (janvier 1998 et fin février 1999, Tableau 14). Mais, à la différence des eaux « girondines », elle s'accompagne d'une faible disponibilité en azote (nitrate et ammonium) et en silicium (Tableau 8, 14), avec typiquement moins de $1 \mu\text{M}$ de nitrates et de $2 \mu\text{M}$ de silicates dès le début du printemps, ce qui doit expliquer qu'une addition de phosphate seul n'a eu aucun effet à chaque période sur la chl *a* et la production par rapport aux contrôles. Par conséquent le phosphore ne serait pas le seul élément limitant dans ces eaux.

3.3.3. Le rôle des apports girondins en sels nutritifs au plateau continental Sud Gascogne sur l'évolution saisonnière des éléments limitants la croissance algale

Les apports en substances minérales terrigènes par les fleuves sont connus pour être une source d'enrichissement des zones côtières, en particulier en éléments clés pour la croissance phytoplanctonique (azote, phosphore, silice). Leur augmentation durant les dernières

décennies due à une anthropisation croissante est désormais un fait avéré (Conley 2000). Toutefois, la dynamique des populations phytoplanctoniques reste très variable suivant l'écosystème côtier considéré, ce qui peut être attribué majoritairement à des disponibilités à la fois en sels nutritifs mais également en lumière très différentes (Cloern 1999). Dans des milieux côtiers tels que la baie Nord de San Francisco (Cloern 1987, Alpine & Cloern 1988), l'estuaire hollandais Westerschelde (Cloern 1999), la croissance algale est contrainte toute l'année par la disponibilité en lumière, rendue limitante par des teneurs en matières en suspension très élevées (environ 30 à 100 mg l⁻¹). Le panache de la Gironde, en revanche, est caractérisé par des MES plus faibles, typiquement comprises entre 0 et 10 mg l⁻¹ dans notre étude avec un maximum mesuré en janvier 1998 (9,2 mg l⁻¹) et fin février 1999 (28,4 mg l⁻¹) (Froidefond comm. pers.). Artigas (1997) trouve des valeurs similaires avec un maximum dans le panache en février 1993 mais également en période de crue en mai 1992 (non mesurée à cette période dans notre étude) alors que des valeurs plus élevées de MES (> 50 mg l⁻¹) sont généralement restreintes à l'estuaire (Artigas 1998, Jouanneau et al. 1999). Le panache de la Gironde présente plutôt des caractéristiques similaires aux écosystèmes côtiers et estuariens tels que la baie de Delaware (Pennock & Sharp 1994), la baie de Tomales (au nord de la Baie de San Francisco), l'estuaire hollandais Oosterschelde (Cloern 1999 et références associées) pour lesquels la croissance phytoplanctonique est limitée par la lumière en hiver puis est périodiquement limitée en nutriments au printemps, en été et jusqu'aux mois de septembre-octobre. Des périodes de limitation en nutriments ont également été montrées pour d'autres écosystèmes tels que la baie de Chesapeake (Fisher et al. 1992), plusieurs estuaires de la côte est des Etats Unis (D'Elia et al. 1986, Rudek et al. 1991, Oviatt et al. 1995), les eaux côtières et estuariennes chinoises (Harrison et al. 1990, Yin et al. 2000) mais aussi la baie de Brest (Del Amo et al. 1997).

Le phosphore en tant qu'élément limitant la croissance algale par opposition à l'azote est fréquemment cité dans des études réalisées en eaux côtières (Paasche & Erga 1988, Harrison et al. 1990, Thingstad et al. 1993) et estuariennes (Fisher et al. 1992, Pennock & Sharp 1994, Holmboe et al. 1999, Yin et al. 2000). Dans ces zones influencées par l'arrivée d'eaux douces, le statut des nutriments par rapport à la croissance algale dépend non seulement de la charge en nutriments des apports fluviaux mais aussi et surtout des équilibres/déséquilibres entre les nutriments présents dans ces apports (D'Elia et al. 1986, Malone et al. 1988, Harrison et al.

1990, Rudek et al. 1991, Conley 2000, Yin et al. 2000). C'est ce que nous allons tenter de montrer pour le panache de la Gironde aux différentes saisons.

Hiver

En janvier 1998 dans le panache de la Gironde, alors que la biomasse et la production algale sont faibles, le renouvellement du carbone algal est lent (20 et 31 jours) et les débits girondins sont élevés ($1570 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ en moyenne sept jours avant le début de BIOMET 2, Fig. 10), les gradients négatifs de phosphate, nitrate et silicate du panache turbide aux eaux « océaniques » reflètent l'enrichissement du plateau continental en substances minérales d'origine terrigène apportés par la Gironde. A l'embouchure du fleuve, une relation linéaire inverse est mise en évidence en janvier et début mars 1998 dans une gamme de salinité de 16 à 33 (Fig. 7) avec des rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ moyens sur cette gamme de 41 ± 10 ($n = 17$) et 52 ± 3 ($n = 15$). Les apports girondins au plateau continental sont par conséquent déficients en phosphates par rapport à l'azote minéral dominé par les nitrates en début ($\text{NO}_3:\text{PO}_4 = 31$ dans les eaux « girondines ») et en fin d'hiver 1998. Ce statut des apports nutritifs girondins expliquerait que le phosphore soit le premier élément limitant des blooms hivernaux dans les eaux « girondines ». Au contraire les eaux océaniques atlantiques ($S > 35,5$), la seconde source majeure de nutriments aux eaux du plateau continental, ont des rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ et $\text{N}_{\text{min}}:\text{PO}_4$ beaucoup plus équilibrés (respectivement 14 ± 2 et 20 ± 2 , $n = 13$ en janvier 1998). Leur influence pourrait expliquer que l'azote soit également rapidement limitant dans les eaux à caractère plus « océanique ».

Printemps

Les débits élevés un mois avant juin 1998 et en mai 1999 doivent contribuer à l'occurrence des blooms printaniers observés dans les eaux « girondines » comme on l'a vu précédemment en entraînant un enrichissement du plateau continental en phosphates et en nitrates. Herbland et al. (1998) et Michel et al. (2000) ont trouvé des rapports $\text{NO}_3:\text{PO}_4$ estuariens élevés respectivement en mai 1995 (70 ± 9 dans une gamme de salinité de 18 à 27) et en mai 1997 (~ 38 pour une salinité comprise entre 21,2 et 31,7) associés à une conservativité des nutriments dans ces gammes de salinité. Ces rapports estuariens n'ont pas été déterminés dans notre étude. Si on suppose que ces rapports étaient également élevés en mai 1998 et 1999, cela expliquerait que le phosphore soit l'élément le plus rapidement limitant des blooms printaniers. L'influence des eaux océaniques atlantiques ($S > 35,5$) plus équilibrées en sels

nutritifs (avec des rapports $N_{\min}:\text{PO}_4$ de 23 à 28 en moyenne en dessous de la couche euphotique de fin avril à début octobre 1999) sur les eaux en limite de panache expliquerait que celles-ci soient plus carencées à la fois en phosphore et en azote au printemps, en été et en automne.

Eté

En période estivale, la croissance algale est limitée à la fois par le phosphore et l'azote dans les eaux « girondines ». Le changement saisonnier du facteur limitant est souvent associé à des variations saisonnières dans les débits et les charges en nutriments des fleuves (D'Elia et al. 1986, Paasche & Erga 1988, Rudek et al. 1991). Dans la baie de Chesapeake, le passage d'une limitation printanière en phosphore à une limitation estivale en azote est relié au déclin du rapport atomique N:P des apports fluviaux entre le printemps et l'été (Fisher et al. 1992). Aucune étude systématique des variations saisonnières des rapports N:P n'a été réalisée dans l'estuaire de la Gironde. D'après des résultats du RNO datant de la période d'étude 1974-1984, des mesures plus récentes n'ayant pas encore été publiées, nitrate et phosphate ne seraient pas conservatifs dans les eaux estuariennes en été (RNO 1989-1990). Par conséquent les nutriments pourraient être en partie consommés dans l'estuaire de la Gironde, où des blooms ont effectivement été observés en été (Artigas 1997), avant même d'être transportés sur le plateau continental. Cela pourrait être le cas en fin juin et mi-juillet 1999, périodes au cours desquelles les concentrations de phosphates étaient faibles même aux stations les plus proches de l'embouchure du fleuve. De plus, la limitation supplémentaire en azote observée à cette période intervient en condition de faible influence des apports girondins due aux faibles débits (608, 533 et 252 $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ respectivement en juin 98, fin juin et mi-juillet 99, Fig. 10) et aux faibles gradients horizontaux de salinité.

Automne

A cette période, nous ne disposons pas de données sur les teneurs en sels nutritifs des eaux estuariennes girondines. Toutefois, l'enrichissement en nutriments des eaux les plus dessalées observé à cette période est probablement dû à une redistribution du stock profond de sels nutritifs mais aussi aux apports de la Gironde.

3.3.4. Conséquences de la limitation par le phosphore sur la structure de taille des communautés microplanctoniques

3.3.4.1. Structure de taille du phytoplancton

Elle montre une évolution saisonnière très marquée. Dans les eaux « girondines », les cellules nanoplanctoniques (3-20 μm) dominent en janvier 1998 (56 % de la chl *a* et 64 % de la production) en condition de limitation par la lumière. Elles sont surpassées par les algues microplanctoniques (> 20 μm) au moment du bloom hivernal (56 % de la chl *a* en 1998 et 49 % en 1999), puis leur contribution redevient importante et même dominante en condition de limitation par le phosphore, au printemps avant (53 % de la chl *a* et 57 % de la production fin avril 1999) et pendant le bloom printanier (respectivement 71 et 64 % fin mai 1999) et en début octobre. En juin 1998, les cellules picophytoplanctoniques (< 3 μm) prédominent en terme de biomasse et surtout de production. Les résultats de 1999 ne correspondant pas au fractionnement de la production réelle mais à celui de P_m sont à nuancer au vu de la relation inverse qui peut être dégagée entre P_m^* et la taille des cellules phytoplanctoniques (Pondaven 1997). Toutefois ce fractionnement est similaire à celui de la chl *a*. La même contribution majoritaire des cellules algales inférieures à 20 μm avait été observée en avril 1993 (Artigas 1997) et en mai 1995 (Herbland et al. 1998) pendant le bloom printanier alors que les phosphates étaient épuisés. Dans les eaux « océaniques », les changements de structure de taille des algues sont encore plus prononcés avec en période de dominance des cellules inférieures à 20 μm une contribution majoritaire du picoplancton (49 % et 64 % de la chl *a* fin avril et fin mai 1999). Dans les expériences d'enrichissement à chaque période, que ce soient dans les contrôles ou dans les échantillons, la structure de taille des populations algales qui se sont développées (jusqu'au maximum de chl *a*) est restée la même qu'initialement (Fig. 31). Par conséquent les communautés algales n'ont pas changé sous l'effet de l'un ou l'autre traitement.

Outre le rôle de la limitation de la croissance des diatomées par le silicate, l'évolution saisonnière de la structure de taille des algues illustre le concept général de Riegman et al. (1993) sur la structure de taille du réseau trophique, basé notamment sur les travaux de Thingstad & Sakshaug (1990) énonçant que « les petites cellules algales sont de meilleurs

compétiteurs pour la lumière et les nutriments que les cellules plus grandes ». Les cellules inférieures à 20 µm sont effectivement dominantes dans le panache de la Gironde soit quand la lumière est limitante soit quand ce sont les sels nutritifs (P ou P+N). L'explication avancée relève d'une diffusion moléculaire des sels nutritifs facilitée chez les petites cellules ayant un rapport surface/volume plus important que celui des cellules plus grandes. Cela a été montré par Chisholm (1992) pour l'azote et par Morel et al. (1991) pour le fer et le zinc.

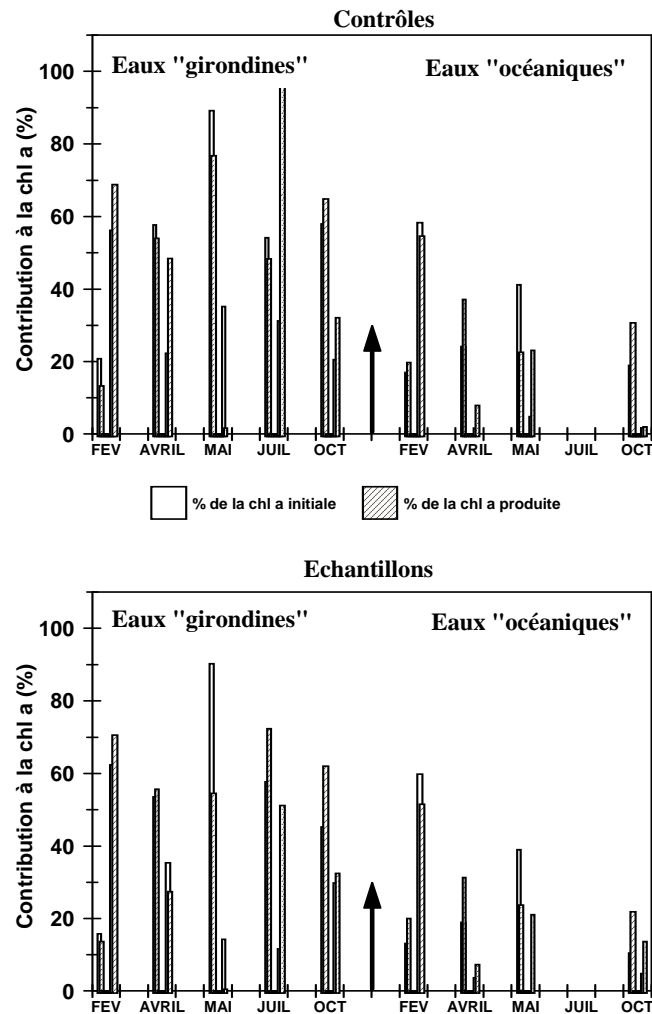


Fig. 31. Contribution des classes de taille 3-20 µm (deux premiers histogrammes de chaque période) et > 20 µm (deux derniers histogrammes de chaque période) à la chl *a* totale initialement présente dans l'eau (histogrammes blancs) ou à la chl *a* produite dans les expériences d'enrichissement jusqu'à sa valeur maximale (histogrammes noirs ; valeur au max-valeur initiale). Dans les eaux « océaniques » en début octobre, l'écart entre les deux valeurs étant infime, nous avons représenté les contributions au maximum de chl *a* (~4 jours). Les échantillons de mi-juillet correspondent aux eaux « girondines » G1 (salinité de 33,9) enrichies en NH₄+PO₄.

3.3.4.2. Conséquences de la compétition phytoplancton-bactéries pour le phosphate

Cet argument doit être également valable en condition de limitation par le phosphore (Thingstad & Rassoulzadegan 1999). Cela pourrait aussi expliquer en partie la dominance des bactéries sur les algues dans l'assimilation des phosphates, comme cela a été souvent reporté dans les environnements limités en phosphore c'est à dire principalement dans de nombreuses études en milieu dulcicole (Currie & Kalff 1984b, Cotner & Wetzel 1992) mais également en eaux côtières (Thingstad et al. 1993, 1998) et dans des cultures en condition de déficience en phosphore (Rothhaupt & Güde 1992). Dans les eaux « girondines », les bactéries dominent l'assimilation des phosphates en période de limitation par le phosphore (84 % en début mars 1998, 87 % fin avril et 77 % fin mai 1999). En condition de limitation par le phosphore et l'azote telle que supposée dans les eaux « océaniques », la fraction de taille 0,2-1µm domine également (Fig. 21, 22). Dans ce cas l'assimilation bactérienne pourrait être surestimée au vu des teneurs non négligeables de chl *a* dans la fraction inférieure à 1 µm (~40 %) en juin 1998, fin mai et début octobre 1999. Si l'on tient compte de ce picophytoplancton, les bactéries réalisent encore 78 %, 58 % et 46 % de l'assimilation respectivement à ces différentes périodes. Au contraire l'assimilation par les algues augmente et même domine en conditions de relative abondance de phosphates (56 % et 63 % dans les eaux « girondines » et « océaniques » fin février 1999, Fig. 21). Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Currie et al. (1986) qui trouvent, parmi 13 lacs étudiés, une contribution du phytoplancton la plus élevée dans les lacs les moins déficients en phosphore, ce qui les conduit à l'hypothèse que la contribution relative des algues et des bactéries à l'assimilation des phosphates dans les lacs dépend de la sévérité de la limitation par le phosphore. En eaux côtières, Lebo (1990), Dolan et al. (1995) et Thingstad et al. (1996b) ont également trouvé une contribution algale plus importante en période de relative abondance de phosphates. Enfin, de nombreuses études ont constaté une augmentation de la contribution des grandes cellules lorsque des ajouts de phosphates sont réalisés (Lean & White 1983, Suttle & Harrison 1988, Rothhaupt & Güde 1992). De tels résultats obtenus à court terme après l'addition de phosphates conduisent Suttle et al. (1990) à supposer que les grandes cellules seraient plus compétitives lorsque les apports en nutriment du milieu sont réalisés sous forme de patch, plutôt qu'en condition de concentrations faibles et homogènes. Cela serait la raison pour laquelle de grandes cellules algales coexistent malgré tout avec des cellules plus petites dans des environnements déficients en nutriments alors que justement ces dernières sont plus compétitives dans de

telles conditions. Ce paradoxe dit de Hutchinson (1961) qui transparait dans le panache de la Gironde, notamment avec la présence non négligeable de diatomées fin mai et fin juin 1999, peut s'étendre à la coexistence de bactéries et de cellules nanophytoplanctoniques (Thingstad & Rassoulzadegan 1999). De tels apports non homogènes en nutriments pourraient être générés à microéchelle par l'excrétion du zooplancton (Rothhaupt & Güde 1992) connue pour être essentiellement constituée de phosphates (Peters & Lean 1973, Taylor & Lean 1981) ou à mésoéchelle par un upwelling côtier (Suttle et al. 1990) ou par un coup de vent (Suttle et al. 1988).

Ainsi, en condition de déplétion en phosphate, le rapport surface/volume plus favorable chez les bactéries doit renforcer la limitation par le phosphore des algues et la structuration vers une majorité de petites cellules. Cet effet est d'autant plus important que les bactéries sont plus compétitives pour l'acquisition du phosphate aux faibles concentrations, leur système de transport des phosphates à travers la membrane cytoplasmique ayant une meilleure affinité pour le phosphate. C'est ce que l'on observe en fin mai 1999 avec des constantes K_t+S_n d'assimilation plus faibles chez les bactéries (2-38 nM) que chez les algues (56-90 nM) et cela a déjà été montré en lacs (Chrost & Overbeck 1987, Cotner & Wetzel 1992), en eaux côtières (Thingstad et al. 1993, 1998) et en culture (Currie & Kalff 1984a). Par ailleurs, la compétition est d'autant plus importante que les bactéries seraient elles-mêmes limitées par le phosphore à certaines périodes de l'année. En effet l'augmentation de la biomasse et de la production bactérienne dans l'échantillon total enrichi en phosphate par rapport au contrôle en fin mai 1999 dans les eaux « girondines » peut être directement attribuée à l'addition de phosphate, la même réponse étant aussi observée dans l'échantillon d'eau préfiltrée sur 1 μm donc supposée exempte non seulement de prédateurs des bactéries mais également de phytoplancton (Fig. 27, 28). L'effet n'est donc pas indirect via une stimulation de la croissance algale et de façon ultime une excrétion plus importante de carbone organique par les algues dont les bactéries profiteraient (Riemann & Sondergaard 1986). De plus, les rapports relativement faibles entre la production bactérienne et la production primaire intégrées sur la couche euphotique en juin 1998 (en moyenne 15 %, Tableau 9) et déjà obtenues en avril 1993, mai 1994 et mai 1995 (10 à 33 %, Artigas et al. 2001) semblent confirmer que le carbone d'origine phytoplanctonique n'est pas limitant pour la croissance bactérienne à cette période. Il le serait plutôt en janvier 1998 alors que la production carbonée est limitée par la lumière.

3.3.4.3. Structure de taille du réseau trophique planctonique

Ainsi, il apparaît qu'après les blooms hivernaux le réseau trophique est dominé par de petites cellules algales nanoplanctoniques et picoplanctoniques (fin avril 1999). Ce sont ces populations qui se développent au moment des blooms printaniers (juin 1998, fin mai 1999). Par conséquent l'occurrence des blooms hivernaux et leur limitation par le phosphore, associées à des apports girondins déséquilibrés en phosphate, favorisent le développement de cellules de petite taille et l'occurrence ultérieure de blooms printaniers « atypiques » composés de pico et de nanoplancton (nanoflagellés) plutôt que de blooms printaniers plus « typiques » des eaux tempérées c'est à dire dominées par de grandes diatomées. La diminution de la taille des cellules algales a une incidence sur la structure de taille de l'ensemble du réseau trophique. Sautour et al. (2000) montrent une prédominance du microzooplancton dans la communauté des brouteurs herbivores au moment du bloom printanier de mai 1995, avec une pression de broutage pouvant atteindre $99 \% j^{-1}$ de la production primaire totale alors que le mésozooplancton ne représenterait qu'une pression de l'ordre de $28 \% j^{-1}$. De faibles pressions de broutage par le mésozooplancton avaient déjà été mesurées en avril 1993 (Sautour et al. 1996). Cette consommation journalière de la totalité du carbone produit s'accompagne d'autres processus de régénération actifs tels qu'une dégradation rapide des pelotes fécales zooplanctoniques (Sautour, comm. pers.), une activité exoprotéolytique bactérienne élevée dans les particules qui sédimentent (Delmas et al. en révision) et un faible taux de sédimentation du carbone ($1,5$ à 7% de la production primaire journalière, Laborde et al. 1996). Dans ces conditions, le concept de système de « maintenance » défini par Platt et al. (1992) et repris par Riegman et al. (1993) peut s'appliquer au panache de la Gironde en période printanière (Herbland et al. 1998). En janvier et début mars 1998, le broutage par le microzooplancton était négligeable par rapport à celui du mésozooplancton même si celui-ci était faible en terme de biomasse (respectivement 6 et $4 \% j^{-1}$, Sautour comm. pers.). La quasi absence d'activité de broutage du microzooplancton ainsi que sa faible abondance en janvier 1998 (Vincent & Hartmann, comm. pers.) alors que les cellules algales sont majoritairement inférieures à $20 \mu m$ pourraient s'expliquer par une activité métabolique ralentie par les basses températures hivernales, une faible production carbonée, limitée par la lumière à cette période ainsi qu'une faible activité bactérienne qui en résulte. En début mars 1998, elle pourrait être plutôt attribuée à la faible biomasse algale ingérable par ce microzooplancton qui serait

majoritairement constituée de cellules inférieures à 5 μm (Hansen et al. 1994, Gallegos et al. 1996).

3.4. Conclusion

Les eaux du plateau continental Sud Gascogne sont caractérisées par la récurrence (en 1998 et en 1999) de deux blooms majeurs : le bloom hivernal qui se développe dans le panache de la Gironde et les eaux océaniques adjacentes et le bloom printanier dans les eaux les plus soumises aux apports de la Gironde. L'un est engendré par la présence de fenêtres anticycloniques hivernales et l'autre, par les crues printanières de la Gironde. En ces périodes de blooms, la contribution du carbone phytoplanctonique au carbone organique particulaire devient la plus importante de l'année. En dehors de ces périodes, le carbone détritique domine la MOP et le carbone bactérien représente environ la moitié du carbone algal dans le panache et à la limite du panache, ce qui montre l'importance du compartiment bactérien à certaines périodes de l'année.

L'hypothèse de la limitation des blooms hivernaux par le phosphore est effectivement confirmée en 1998 et en 1999. Cette limitation de la croissance algale perdure dans les eaux « girondines » au printemps et au moment des blooms printaniers puis elle évolue vers une limitation à la fois en phosphore et en azote en période estivale. Cette évolution s'explique par des apports girondins au plateau continental carencés en phosphate relativement à l'azote minéral en hiver et au printemps puis par une faible influence de ces apports en été due aux faibles débits de la Gironde, à un étalement des salinités et de surcroît, à une probable consommation des sels nutritifs dans les eaux estuariennes. Les eaux océaniques atlantiques, la seconde source majeure de nutriments, sont plus équilibrées en sels nutritifs et leur influence pourrait expliquer la carence à la fois en phosphate et en azote minéral des eaux à caractère plus « océanique ».

La limitation des blooms hivernaux par le phosphore, associée à des apports nutritifs girondins déséquilibrés en phosphate favorise la structuration des populations algales vers des petites cellules nanoplanctoniques et picoplanctoniques au printemps. Et malgré des apports en sels nutritifs probablement importants (même s'ils sont déséquilibrés) au moment des crues printanières de la Gironde, ce sont ces petites cellules qui se développent et constituent le bloom printanier « atypique » des eaux « girondines ». La compétition phytoplancton-bactéries pour le phosphore va d'autant plus accentuer la limitation du phytoplancton que les bactéries

sont plus compétitives pour l'acquisition du phosphate (rapport surface/volume plus favorable et meilleure affinité pour le phosphate) et qu'elles seraient elles-mêmes limitées par le phosphore à certaines périodes de l'année. Cette diminution de la taille des cellules algales entraîne une diminution du spectre de taille de l'ensemble du réseau trophique.

4. Dynamique du phosphore

4.1. Objectifs*

Dans ce chapitre, nous étudierons l'évolution saisonnière des différentes formes de phosphore, de leur contribution au phosphore total ainsi que l'évolution des activités phosphatasiques phytoplanctoniques et bactériennes. La compétition entre les algues et les bactéries pour le POD sera mise en évidence ainsi que la régulation de l'APA par le phosphate à partir des investigations *in situ* et des expériences d'enrichissement *in vitro*. Enfin, les flux de régénération du phosphore à partir des fractions particulières seront estimés ainsi qu'un bilan des flux de phosphore dans les compartiments algaux et bactériens.

4.2. Résultats

Nous présenterons essentiellement (sauf indication contraire) les résultats des eaux « girondines », les eaux les plus déficientes en phosphate.

4.2.1. Les différentes formes de phosphore

Le phosphore total (PT), intégré sur la colonne d'eau, a doublé de valeur en moyenne entre janvier et début mars 1998 dans les eaux « girondines » puis retrouve en juin un niveau similaire à celui de janvier (Fig. 32). Ce doublement est principalement dû à une augmentation très importante du POD intégré alors que celle du POP intégré est progressive et que le phosphate intégré, lui, diminue fortement (Fig. 32). En 1999, le PT intégré n'a pas montré d'évolution saisonnière très marquée si ce n'est une tendance à la diminution entre fin février et fin avril. En revanche, le phosphate intégré diminue très fortement entre fin février et fin avril, se stabilisant ensuite autour de 2 mmol m^{-2} au printemps et en été puis augmentant à nouveau début octobre. Le POD et le POP intégrés sont beaucoup plus stables avec une tendance pour l'un à diminuer et l'autre à augmenter jusque fin juin.

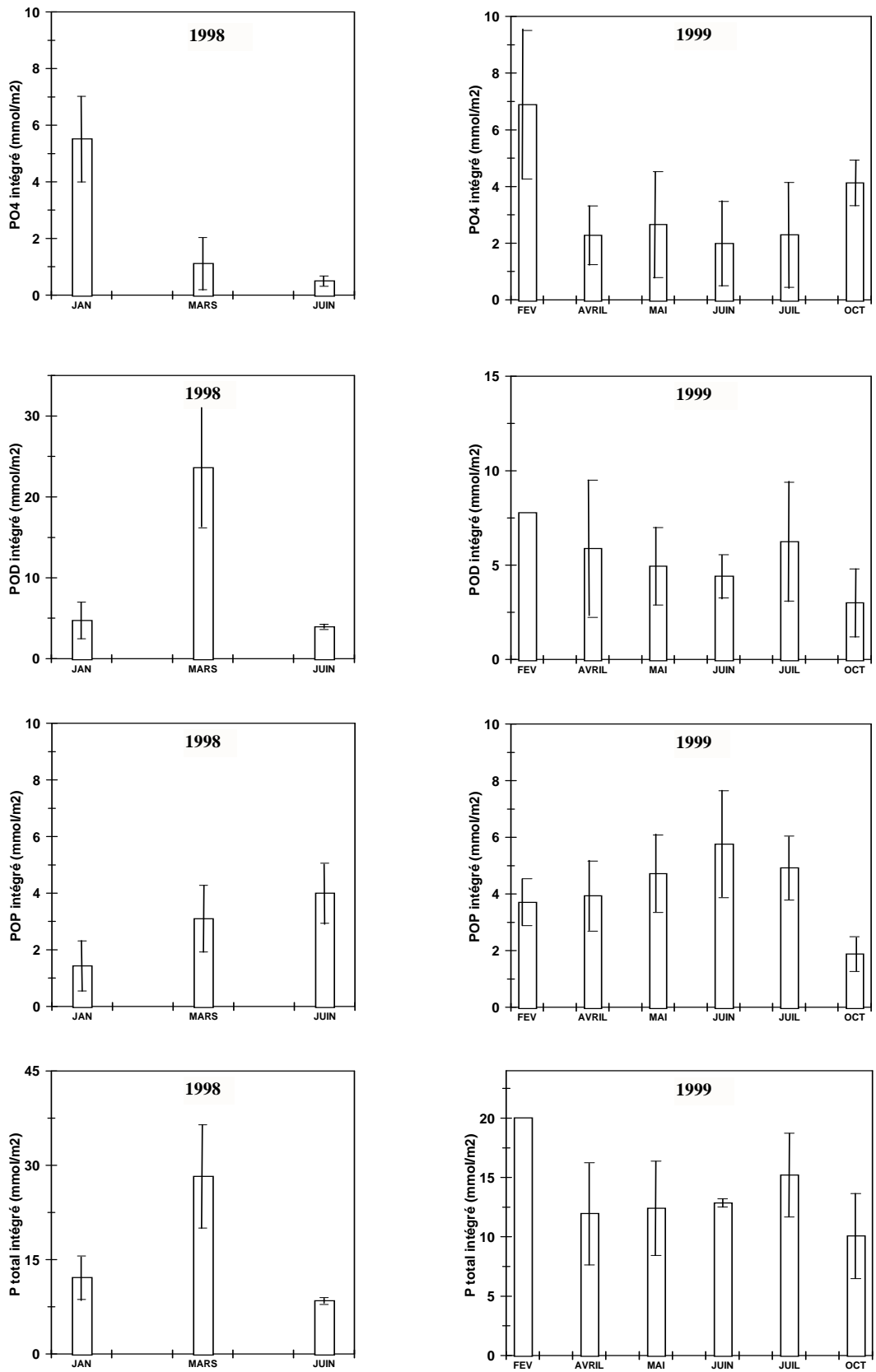


Fig. 32. Phosphate, POD, POP et PT intégrés sur la colonne d'eau dans les eaux « girondines » (réseau et stations fixes) en 1998 et en 1999.

La diminution des teneurs en phosphate entre l'hiver et le début du printemps en 1998 et en 1999 est encore plus marquée dans la couche de mélange avec des concentrations quasi indétectables au printemps et en été (Tableau 8). Parallèlement, les concentrations de POD restent relativement élevées et sont comprises en moyenne pour les deux années entre 0,112 et 0,262 μM , à l'exception de teneurs plus élevées (0,628 μM) en début mars 1998 (Tableau 16).

	POD (μM)	Monoesters de PO_4 (μM)	Contribution au POD (%)
1998			
Janvier	0,262 \pm 0,098 (10)	-	-
Début mars	0,628 \pm 0,190 (8)	-	-
Juin	0,184 \pm 0,067 (7)	-	-
1999			
Fin février	0,157 \pm 0,122 (2)	0,075 \pm 0,018 (7)	34 \pm 3 (3)
Fin avril	0,175 \pm 0,098 (15)	0,036 \pm 0,010 (5)	11 \pm 2 (3)
Fin mai	0,141 \pm 0,035 (7)	0,111 \pm 0,014 (8)	65 \pm 9 (4)
Fin juin	0,112 \pm 0,014 (5)	-	-
Mi-juillet	0,113 \pm 0,019 (6)	-	-
Début octobre	0,112 \pm 0,040 (4)	0,033 \pm 0,014 (4)	16 \pm 8 (2)

Tableau 16. Concentrations de POD dans la couche de mélange et de monoesters de phosphate dans la colonne d'eau et contribution de ces derniers au POD des eaux « girondines » en 1999

Le POP a augmenté progressivement en 1998 (Tableau 10). En 1999, il diminue entre fin février et fin avril puis augmente à nouveau fin mai et se stabilise au printemps et en été avec une moyenne proche de 0,160 μM (Tableau 10). Les quelques fractionnements du POP (0,2-1 μm et $> 1 \mu\text{m}$) dans la couche de mélange des stations fixes en 1999 montrent que les algues contribuent majoritairement au POP dans les eaux « girondines » (Fig. 33). En terme de contribution des différentes formes de phosphore dans la couche de mélange, d'une part la contribution du POP au PT augmente de l'hiver au printemps en 1998 et en 1999. D'autre part, alors que phosphate et POD se partagent à peu près équitablement le pool de phosphore dissous total en hiver, le POD domine ce pool au printemps qui représente alors en moyenne entre 37 et 57 % du PT dans la couche de mélange (Fig. 34).

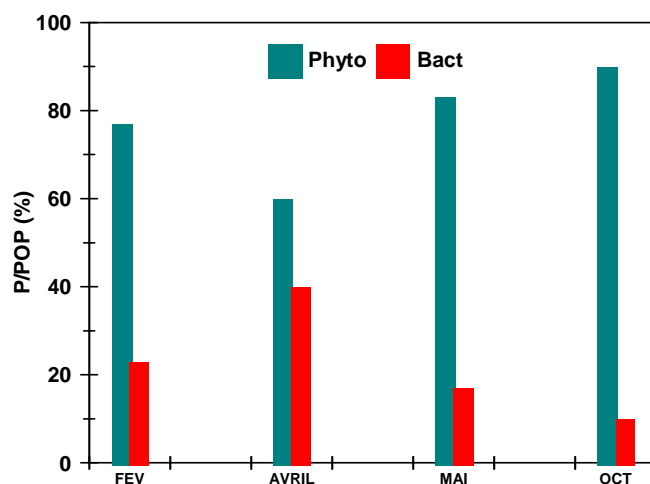


Fig. 33. Contribution des algues (fraction > 1 μm) et des bactéries (0,2-1 μm) au POP total dans la couche de mélange des stations fixes « girondines » en 1999.

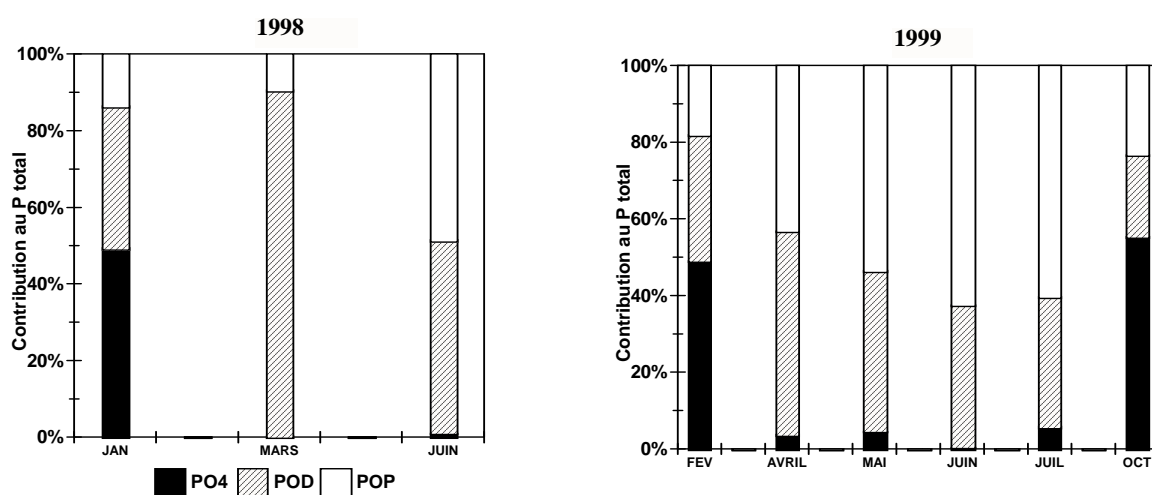


Fig. 34. Contributions dans la couche de mélange des eaux « girondines » (réseau et stations fixes) du phosphate, du POD et du POP au PT en 1998 et en 1999

Les teneurs en monoesters de phosphate présentent une distribution verticale homogène à chaque période. Leurs concentrations sur toute la colonne d'eau sont les plus élevées fin février (0,075 μM) et fin mai (0,111 μM) et les plus faibles fin avril et début octobre (Tableau 16).

4.2.2. APA totale et fractionnée

L'évolution de l'APA a été suivie parallèlement à celles des différentes formes de phosphore. Généralement, l'APA totale est plus élevée dans la couche de mélange puis diminue en profondeur (Fig. 35). Son évolution dans la couche de mélange est très caractéristique en 1998, puisqu'elle augmente d'un facteur 10 entre janvier (2 à 8 nM h⁻¹) et début mars (5 à 35 nM h⁻¹) puis à nouveau d'un même facteur entre début mars et juin (100 à 300 nM h⁻¹). En 1999, l'évolution de l'APA de l'hiver au printemps est tout à fait similaire à celle de 1998 (Fig. 35). En début octobre 1999, les activités sont à nouveau faibles (7-12 nM h⁻¹).

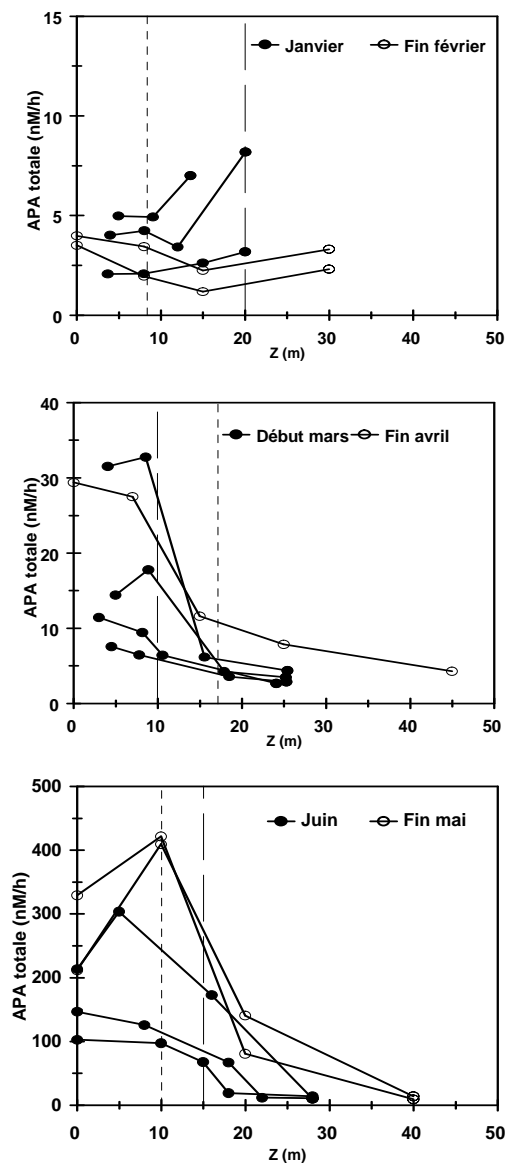


Fig. 35. Profils verticaux de l'APA totale aux stations fixes de l'hiver au printemps 1998 (ronds pleins) et 1999 (ronds vides). Les grands pointillés et les pointillés plus fins marquent respectivement l'emplacement de la profondeur de la couche de mélange en 1998 et en 1999

Tout comme l'APA totale, l'APA dans les fractions de taille 0,2-1 μm et $> 1 \mu\text{m}$ augmente de l'hiver au printemps (Tableau 17, Fig. 35). La contribution de la fraction de taille 0,2-1 μm associée aux bactéries reste la plus faible de toutes à la fois en 1998 et en 1999 avec une moyenne annuelle respective de $9 \pm 6 \%$ ($n = 25$) et de $12 \pm 6 \%$ ($n = 12$) dans la couche de mélange. Au contraire, la fraction supérieure à 1 μm associée au phytoplancton est généralement majoritaire avec une contribution augmentant de l'hiver au printemps où elle atteint plus de 60 % de l'APA totale. Enfin l'activité dissoute est importante dans les eaux du panache de la Gironde puisqu'elle atteint $28 \pm 19 \%$ ($n = 25$) en 1998 et $34 \pm 11 \%$ ($n = 12$) en 1999.

	Contribution à l'APA totale			APA spécifique		
	$> 1 \mu\text{m}$ %	0,2-1 μm %	$< 0,2 \mu\text{m}$ %	Phyto $\text{nmol } \mu\text{gchl } a^{-1} \text{ h}^{-1}$	Phyto $\text{nmol } \mu\text{gC}^{-1} \text{ h}^{-1}$	Bact $\text{nmol } \mu\text{gC}^{-1} \text{ h}^{-1}$
1998						
Janvier	48 ± 20 (10)	8 ± 12 (10)	44 ± 24 (10)	$3,1 \pm 1,4$ (10)	$0,06 \pm 0,03$ (10)	$0,05 \pm 0,04$ (7)
Début mars	78 ± 5 (8)	9 ± 2 (8)	13 ± 5 (8)	11 ± 5 (8)	$0,23 \pm 0,10$ (8)	$0,14 \pm 0,06$ (8)
Juin	69 ± 18 (7)	10 ± 8 (7)	21 ± 16 (7)	46 ± 27 (7)	$0,9 \pm 0,5$ (7)	$1,0 \pm 0,6$ (7)
1999						
Fin février	46 ± 9 (3)	10 ± 1 (3)	44 ± 9 (3)	$1,1 \pm 0,3$ (3)	$0,02 \pm 0,01$ (3)	$0,04 \pm 0,01$ (3)
Fin avril	65 ± 11 (3)	16 ± 7 (3)	19 ± 6 (3)	38 ± 20 (3)	$0,8 \pm 0,4$ (3)	$0,4 \pm 0,2$ (3)
Fin mai	60 ± 5 (4)	7 ± 8 (4)	33 ± 8 (4)	149 ± 20 (4)	$3,0 \pm 0,4$ (4)	$4,0 \pm 1,9$ (3)
Début octobre	40 ± 16 (2)	19 ± 6 (2)	41 ± 22 (2)	$3,2 \pm 0,3$ (2)	$0,06 \pm 0,01$ (2)	$0,10 \pm 0$ (2)

Tableau 17. Moyennes (\pm écart-type) des contributions des fractions $> 1 \mu\text{m}$, 0,2-1 μm et $< 0,2 \mu\text{m}$ à l'APA totale et des activités spécifiques algales et bactériennes en 1998 et 1999

L'augmentation caractéristique de l'APA entre l'hiver et la fin du printemps pouvant refléter principalement une augmentation de la biomasse, nous avons normalisé l'activité par celle-ci aussi bien pour la fraction représentant majoritairement les algues que pour celle associée aux bactéries et en supposant un rapport C:chl *a* constant de 50:1 et un contenu cellulaire bactérien en carbone de 16 fg C. Les résultats montrent également une augmentation spectaculaire de ces activités spécifiques entre l'hiver et la fin du printemps dans la couche de mélange et ce de façon reproductible pour les deux années étudiées (Tableau 17). Par ailleurs, il apparaît que les activités spécifiques estimées sont similaires chez les deux communautés planctoniques étudiées, compte tenu de leur variabilité, et pour chaque période de l'année.

4.2.3. Paramètres cinétiques de l'APA et temps de turnover des monoesters de phosphate

Les caractéristiques cinétiques de l'APA (K_m , V_m) ont été évaluées en 1999 et permettent d'estimer le temps de turnover des monoesters de phosphate. La relation entre l'APA totale ou fractionnée et la teneur en substrat (MUF-P) est décrite de façon adéquate par l'équation de Michaelis & Menten en fin avril et fin mai sur toute la gamme de concentration utilisée (Fig. 36). V_m est atteinte à partir de concentrations comprises entre 50 et 100 μM , confirmant ainsi que la concentration de 250 μM choisie permet effectivement d'évaluer V_m . En fin février et début octobre, V_m pourrait être surestimée à 250 μM car l'APA augmente à partir de 100-150 μM après avoir atteint un plateau vers 60 μM . Toutefois cela n'a pas d'incidence sur l'évolution saisonnière de V_m qui est de toute façon bien supérieure fin avril et fin mai par rapport aux autres périodes pour toutes les fractions de taille. A chaque période, les valeurs de K_m des différentes fractions ne sont pas différentes compte tenu de leur écart-type, à l'exception de valeurs plus élevées de la fraction supérieure à 1 μm par rapport aux autres fractions en fin mai (Tableau 18).

	T_n	Total		< 0,2 μm		< 1 μm		0,2-1 μm		> 1 μm	
	h	K_m μM	V_m nM h^{-1}	K_m μM	V_m nM h^{-1}	K_m μM	V_m nM h^{-1}	K_m μM	V_m nM h^{-1}	K_m μM	V_m nM h^{-1}
Fin février	4585	9,72	2,12	7,87	0,28	6,77	0,80	-	-	-	-
		(2,60)	(1,18)	(4,61)	(0,04)	(2)	(0,061)	-	-	-	-
	3021	4,41	1,46	6,98	0,64	5,07	1,09	-	-	-	-
		(1,40)	(0,10)	(1,12)	(0,03)	(1,9)	(0,09)	-	-	-	-
Fin avril	16	0,43	26,3	-	-	1,32	8,86	-	-	0,19	17,58
		(0,11)	(0,48)	-	-	(0,6)	(0,54)	-	-	(0,06)	(0,19)
Fin mai	11	4,68	444	1,00	108	1,18	133	2,09	26	9,00	321
		(0,49)	(10)	(0,13)	(2,6)	(0,18)	(3,8)	(0,9)	(2,5)	(1,7)	(15)
	13	6,06	477	1,31	126	1,82	163	3,19	30	13,2	320
		(0,45)	(8)	(0,10)	(1,98)	(0,27)	(4,7)	(2,1)	(5,7)	(3,4)	(22)
Début octobre	977	5,14	5,26	6,51	2,53	6,17	3,06	1,19	0,37	3,95	2,20
		(1,04)	(0,31)	(1,67)	(0,23)	(1,15)	(0,22)	(1,02)	(0,10)	(1,14)	(0,17)

Tableau 18. Temps de turnover time (T_n) des monoesters de phosphate et paramètres cinétiques des différentes classes de taille de l'APA (K_m , V_m) dans la couche de mélange des eaux « girondines » du panache de la Gironde en 1999. Les valeurs entre parenthèses sont les écart-types.

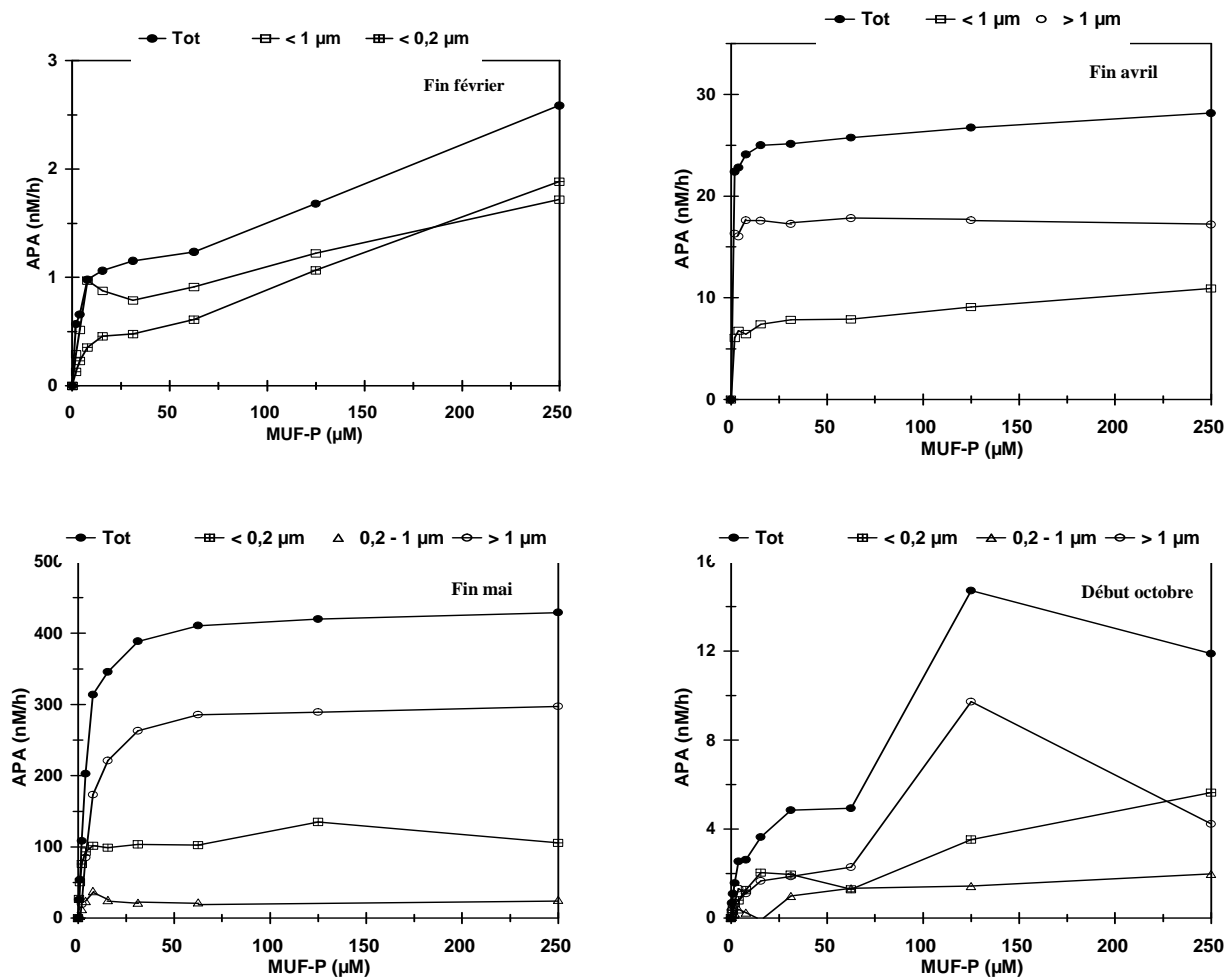


Fig. 36. APA des différentes fractions de taille en fonction de la concentration de MUF-P aux stations fixes en 1999

Le temps de turnover des monoesters de phosphate estimé à partir des valeurs du rapport K_m/V_m est très élevé en fin février et début octobre avec plus de 40 jours alors qu'il n'atteint que 11 à 16 heures au printemps (Tableau 18).

4.2.4. Expériences d'enrichissement en phosphate

L'APA a été suivie *in situ* comme on l'a vu précédemment au cours des stations fixes mais également *in vitro* à l'échelle de quelques jours dans les expériences d'enrichissement en phosphate. L'APA spécifique phytoplanctonique a systématiquement augmenté dans le contrôle au cours du temps, excepté en début octobre, alors que dans l'échantillon enrichi en phosphate, elle tend à diminuer (Fig. 37).

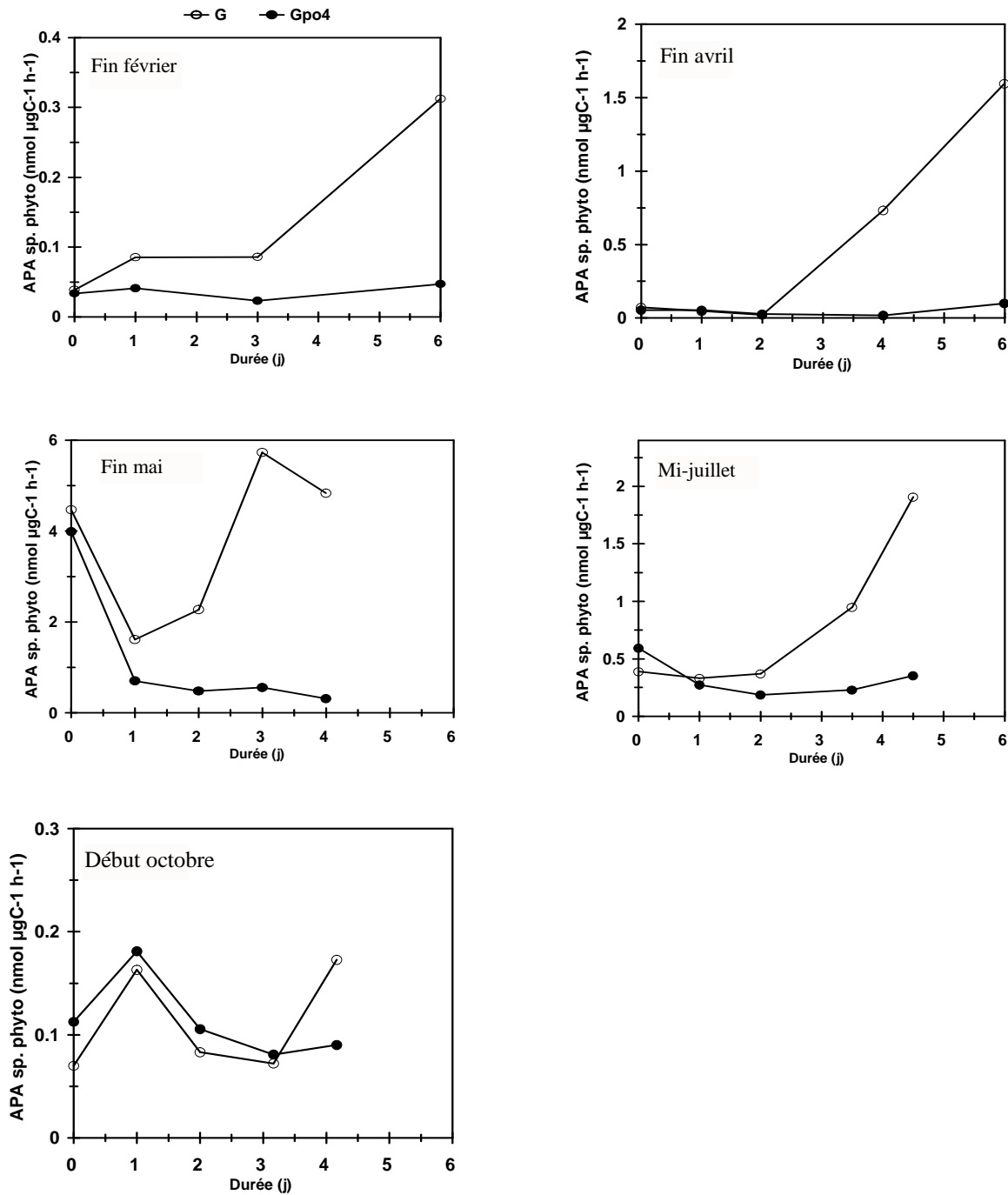


Fig. 37. Evolution de l'APA spécifique phytoplanctonique ($\text{nmol } \mu\text{gC}^{-1} \text{ h}^{-1}$) dans le contrôle (rond vide, G) et dans l'échantillon enrichi en phosphate (rond plein, Gp04) au cours des expériences d'enrichissement conduites de fin février à début octobre 1999 dans les eaux « girondines ». Les échantillons de mi-juillet correspondent aux eaux « girondines » G1 (salinité de 33,9) enrichies en PO_4 seul.

4.2.5. Régénération du phosphore

Si la mesure de l'activité des phosphatases renseigne sur la capacité des microorganismes à régénérer du phosphate à partir du POD, la régénération du phosphore à partir des fractions particulaires a également été évaluée. Cette mesure réalisée de fin février à fin mai 1999 consiste dans un premier temps à marquer les populations planctoniques à l'aide de $^{33}\text{P-PO}_4^{3-}$ jusqu'à atteindre un équilibre isotopique avec le milieu et dans un deuxième temps, à ajouter du phosphate froid et suivre le devenir du ^{33}P dans les fractions particulaires et dissoutes. En fin février 1999, 24 h n'ont pas suffi pour permettre le marquage de la fraction particulaire jusqu'à l'équilibre isotopique, l'assimilation de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ dans le contrôle continuant au-delà de 24 h et jusqu'à 48 h au moins (Fig. 38). Dans ces conditions, la régénération n'a pas été évaluée car elle ne peut être que sous-estimée. En revanche, fin avril et fin mai, l'équilibre isotopique (phase plateau de l'assimilation de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ observée aussi bien au niveau de la fraction particulaire que dissoute) est atteint à partir de 1 à 3 h d'incubation pour la plupart des expériences (Fig. 38). L'addition de phosphate froid (indiquée par la flèche) arrête l'assimilation de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ et provoque une diminution du ^{33}P présent dans la fraction particulaire à des vitesses très faibles. Le transfert dominant et apparent de ^{33}P est réalisé entre la fraction bactérienne 0,2-1 μm et la fraction dissoute (Fig. 38, Tableau 19).

	> 0,2 μm	0,2-1 μm	> 1 μm	Dissous
Fin avril				
Eaux « girondines »	- 0,66 \pm 0,16	- 0,68 \pm 0,12	+ 0,01 \pm 0,07	+ 0,53 \pm 0,04
Eaux « océaniques »	- 0,43 \pm 0,09	- 0,53 \pm 0,06	+ 0,10 \pm 0,09	+ 0,46 \pm 0,08
Fin mai				
Eaux « girondines »	- 0,84 \pm 0,09	- 0,74 \pm 0,07	- 0,10 \pm 0,05	+ 0,88 \pm 0,06
Eaux « océaniques »	- 0,51 \pm 0,13	- 0,31 \pm 0,13	- 0,20 \pm 0,06	+ 0,51 \pm 0,12

Tableau 19. Pentés moyennes (\pm écart-type) de l'évolution du ^{33}P ($\% \text{ h}^{-1}$) dans les fractions particulaires (> 0,2 μm , > 1 μm , 0,2-1 μm) et dissoutes au cours des expériences de mesure de la régénération du phosphore en fin avril et fin mai 1999. Les valeurs en gras sont significativement différentes de zéro ($p=0,05$) et les valeurs normales ne le sont pas (test de Student).

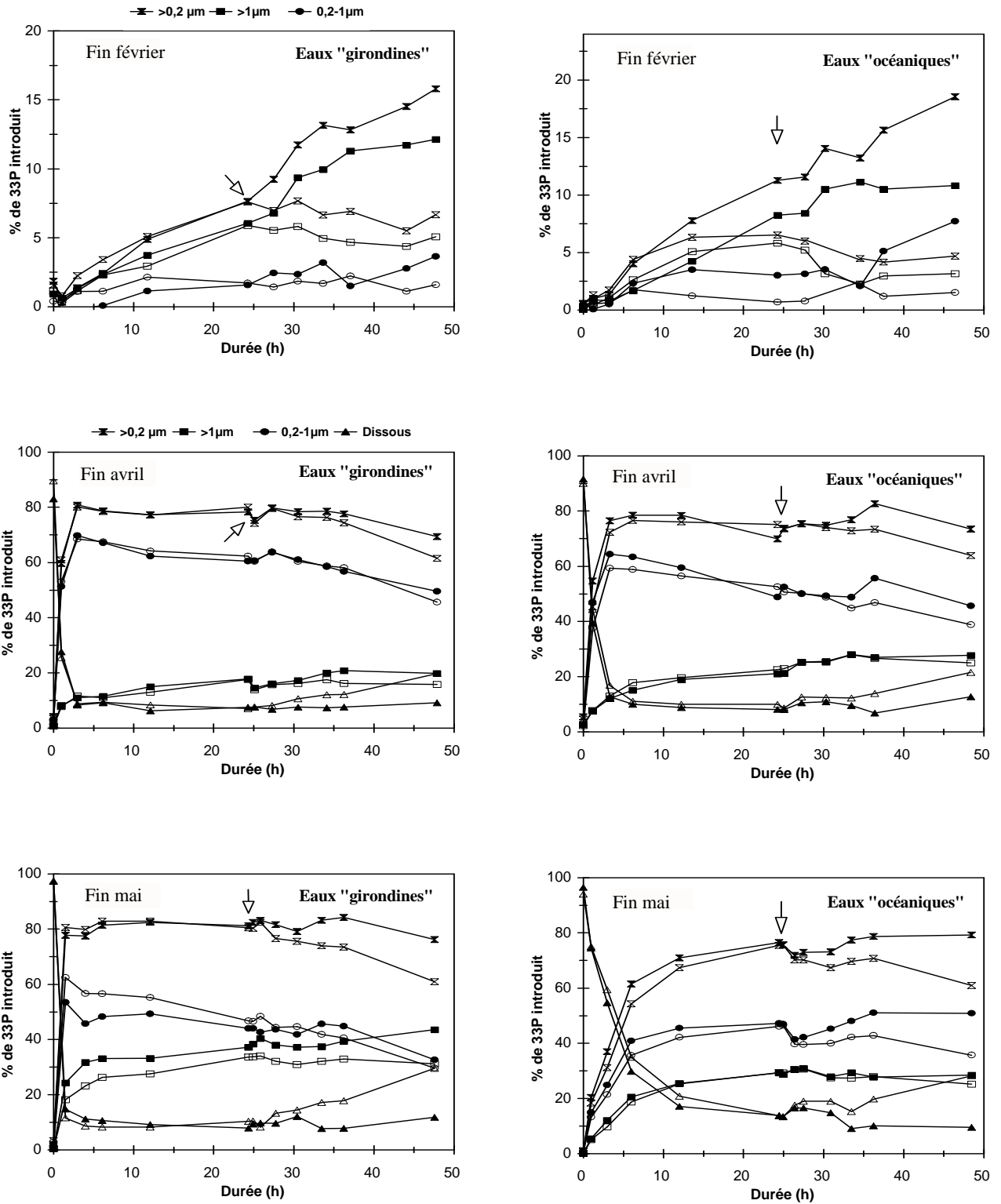


Fig. 38. Distribution au cours du temps du ³³P (% de la quantité initialement introduite) dans les fractions > 0,2 µm, > 1µm, 0,2-1 µm et dissoutes dans les flacons avec (symboles vides) ou sans (contrôles, symboles pleins) addition de phosphate froid 24 h après le début de l'expérience (flèches) réalisée sur des eaux « girondines » et « océaniques » en 1999.

4.3. Discussion

4.3.1. Evolution saisonnière des différentes formes de phosphore et de l'APA totale

Evolution des différentes formes de phosphore

D'une manière générale, les études centrées sur l'élément phosphore présentent rarement un bilan de ses différentes formes. De plus, les flux d'éléments nutritifs d'origine fluviale et indispensables à la croissance phytoplanctonique sont souvent peu estimés dans les zones côtières. Le panache de la Gironde n'y fait pas exception. Toutefois, les apports girondins en substances minérales constituent une source importante d'enrichissement des eaux du plateau continental Sud Gascogne et il doit en être de même pour ce qui est des formes organiques dissoutes et particulaires du phosphore. Cela a été montré dans l'estuaire d'Apalachicola Bay (Golfe du Mexique) où le POP (59 %) puis le POD (24 %) dominent les apports annuels en phosphore (Mortazavi et al. 2000) et dans l'estuaire du Rhône où presque la moitié des apports en phosphore sont sous forme particulaire (Moutin et al. 1998). Dans le panache de la Gironde, Michel et al. (2000) ont évalué les flux de phosphates et, se basant sur les résultats de BIOMET 2, BIOMET 3 et de trois campagnes réalisées en 1997 (FLUGIR 1, 2 et 3 en février, mai et octobre) trouvent que ces flux, entre $4,4$ et $10,8 \times 10^3 \text{ kg j}^{-1}$, seraient principalement dépendants des débits de la Gironde. Ces flux ont probablement été importants en fin janvier 1998 au moment où les débits de la Gironde étaient les plus élevés de l'année (Fig. 10). Si l'on suppose que ces phosphates ont été consommés par les blooms hivernaux puis ont été convertis en POD via l'excrétion du phytoplancton, les processus de grazing ou de sénescence des cellules, cela expliquerait en partie les valeurs importantes de PT intégré sur la colonne d'eau en début mars 1998 et en particulier de POD (Fig. 32). Toutefois, ce POD a pu également être directement apporté par les eaux fluviales. Cette période mise à part, le PT intégré est relativement constant aux autres campagnes d'échantillonnage, à la fois en 1998 et en 1999, ce qui peut s'expliquer par un équilibre entre les apports continus de la Gironde et les pertes de la colonne d'eau au profit du sédiment ou par des valeurs proches de zéro de ces deux termes en période de faibles débits et de faible sédimentation telle qu'en fin de printemps-été.

Si le PT intégré est relativement constant, la contribution des différentes formes de phosphore dans la couche de mélange évolue de façon saisonnière. Alors que la concentration de phosphate chute de l'hiver au début du printemps et reste quasi indétectable ensuite, les teneurs en POD restent relativement élevées et les teneurs en POP tendent à augmenter au printemps (Fig. 32). En conséquence, le POD domine le pool de P dissous au printemps et en été, qui représente alors en moyenne pour les deux années entre 37 et 57 % du PT dans la couche de mélange (Fig. 34). Une telle importance saisonnière du POD avec des concentrations similaires associées à de faibles teneurs en phosphate ont été précédemment observées dans des milieux aussi différents qu'en eaux côtières (0,05-0,18 μM , Solorzano 1978 ; 0-1,1 μM , Kobori & Taga 1979 ; 0,49 μM , Monaghan & Ruttenberg 1999), en lacs (0,065-0,63 μM , Chrost et al. 1984) et dans l'océan du large (0-0,4 μM , Jackson & Williams 1985 ; 0,12 μM , Cotner et al. 1997 ; ~ 0,1-0,4 μM , Karl & Tien 1997). Des concentrations similaires sont également mesurées alors que les phosphates sont élevés (0-0,39 et 0,17-0,38 μM pour respectivement Ridal & Moore 1990 et 1992 ; 0,1-0,3 μM , Vidal et al. 1999). Dans le panache de la Gironde, le POD, qu'il soit d'origine girondine ou produit *in situ*, peut constituer une source significative de P dissous pour les communautés planctoniques au printemps après l'occurrence des blooms hivernaux.

On peut supposer que dans des conditions de déficience en phosphates, la biodisponibilité de ce pool de POD est d'une importance majeure pour les microorganismes. D'une manière générale, la composition du POD est assez mal connue (Benitez-Nelson 2000, Clark Kolowith et al. 2001). Les quelques déterminations par ultrafiltration distinguent deux fractions majeures : une fraction de faible poids moléculaire (< 10 kDa) qui représente en général 50 à 80 % du POD dans les eaux superficielles (Suzumura et al. 1998, Benitez-Nelson 2000) et une fraction de haut poids moléculaire (> 10 kDa et < 0,1 μm). Etant donné ses faibles teneurs en profondeur alors qu'elle domine en surface (Ridal & Moore 1990, 1992), la première fraction dominante serait constituée essentiellement de composés facilement hydrolysables tels que les monoesters de phosphates. La seconde fraction serait composée, d'après une analyse par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (^{31}P -RMN) d'ultrafiltrats (Clark et al. 1998, Clark Kolowith et al. 2001), de façon homogène dans l'océan, de 75 % d'esters de phosphates et 25 % de phosphonates (liaison C-P), composés peu dégradables et s'accumulant en profondeur. Nanny & Minear (1997) identifient les mêmes catégories de composés dans un lac américain par ^{31}P -RMN. Suzumura et al. (1998) trouvent par hydrolyse enzymatique que

cette seconde fraction serait composée de plus de 33 % de monoesters et diesters de phosphate. L'ensemble de ces études suggèrent l'importance des monoesters de phosphates et la potentielle labilité du POD. Dans le panache de la Gironde, la composition du POD doit être hétérogène et variable, le POD étant pour une part (inconnue) produit *in situ* et pour une autre part apporté par les eaux fluviales. Les concentrations de monoesters de phosphate et leur contribution au POD sont effectivement très variables suivant la période considérée avec une gamme de variation de leur moyenne respectivement de 0,033 à 0,111 μM et de 11 à 65 %. De telles gammes de variation sont similaires aux résultats antérieurs d'hydrolyse enzymatique réalisées dans différents milieux, en eaux douces (0-0,13 μM et 0-60 %, Chrost et al. 1984 ; < 0,1 μM et 0-65 %, Francko 1984 ; 63 %, Chrost & Overbeck 1987), en eaux estuariennes et en eaux côtières (0-0,09 μM et ~10 %, Taft et al. 1977 ; 0-0,04 μM et 19 %, Solorzano 1978 ; 0-0,35 μM et 19-50 %, Kobori & Taga 1979 ; 0-0,36 μM et ~0-25 %, Hernandez et al. 2000). Des contributions élevées ont également été mesurées par une méthode de décomposition aux UV dans l'océan Pacifique (66 %, Karl & Yanagi 1997). Ainsi, le pool de POD dans les eaux du panache de la Gironde peut être constitué de quantité significative de composés labiles par l'activité enzymatique, composés facilement biodisponibles comme source de phosphore pour les communautés planctoniques. Les autres composés (nucléotides di- et triphosphates, ADN, ARN, polyphosphates...) nécessitent des étapes d'hydrolyse exoenzymatique supplémentaires.

Evolution de l'APA

Parallèlement à l'évolution saisonnière des différentes formes de phosphore, l'activité phosphatasique totale a montré une augmentation spectaculaire de l'hiver à la fin du printemps en 1998, évolution qui s'est reproduite de façon similaire en 1999. Cette augmentation pourrait être attribuée à une élévation saisonnière de la température, l'activité des phosphatases alcalines, comme celle de la plupart des enzymes, étant dépendante de la température et présentant un maximum pour certaines valeurs de celle-ci. Pettersson & Jansson (1978) enregistrent pour des phosphatases d'eaux de lacs non filtrées un Q_{10} de 1,6 et d'autres valeurs trouvées dans la littérature issues de cultures d'*Anabaena*, de *Chlamydomonas* ou de *Pyrocystis noctiluca* varient de 1,4 à 2,0 (Rivkin & Swift 1980, Huber & Kidby 1984). Dans le cas des eaux du panache de la Gironde, la différence de température enregistrée entre l'hiver et la fin du printemps pour les années 1998 et 1999 étaient

respectivement de 5 °C et de 7 °C. Par conséquent, l'effet température sur l'APA, même s'il diffère légèrement avec la composition en espèces des eaux, ne peut pas expliquer l'augmentation de celle-ci qui a atteint un facteur moyen de 39 en 1998 et de 44 en 1999. De toute évidence, cette évolution est principalement due à une réponse des populations planctoniques à une déplétion saisonnière en phosphate.

La comparaison de nos activités avec celles déjà rapportées dans la littérature est délicate tant les méthodes utilisées sont différentes. D'après quelques exemples présentés dans le Tableau 20, ces méthodes diffèrent notamment par le traitement de l'échantillon (filtré sur 0,2 µm ou non filtré), le substrat employé, la concentration utilisée quand celle-ci est indiquée (concentration supposée trace permettant de se rapprocher de l'activité réelle ou gamme de concentration permettant de déterminer V_m) et la méthode de détection. La gamme des activités phosphatasiques mesurées en lacs et en eaux côtières en condition de limitation par le phosphore sont très supérieures à celles mesurées dans l'océan du large, probablement à cause de la différence de biomasse (Tableau 20). Nos valeurs sont du même ordre de grandeur que celles de Nausch (1998) mesurées par la méthode la plus proche de la nôtre. Par ailleurs la limite des valeurs d'activité entre des conditions de limitation et de non limitation en phosphore est rarement déterminée et doit être différente d'un milieu à un autre. Nous n'avons pas trouvé de référence en eaux côtières non limitées par le phosphore. Dans le panache de la Gironde, l'utilisation croissante du POD suggérée par l'augmentation spectaculaire de l'APA est aussi confirmée par la chute brutale du temps de turnover des monoesters de phosphate de plusieurs milliers d'heures en hiver à quelques dizaines d'heures au printemps (Tableau 18). Ces temps très courts indiquent effectivement une relative faible disponibilité des monoesters de phosphate par rapport à la demande des microorganismes et par conséquent un besoin important en POD.

Conclusion

Ainsi, la déplétion saisonnière en phosphate associée à des concentrations relativement élevées de POD, la potentielle labilité biologique du POD ainsi que l'augmentation spectaculaire de l'APA et le recyclage rapide des monoesters de phosphate montrent l'utilisation potentielle du POD comme source de phosphore pour les populations planctoniques du panache de la Gironde au printemps.

4.3.2. Contributions du phytoplancton, des bactéries et du dissous à l'APA

L'APA totale représente l'activité des populations phytoplanctoniques et bactériennes présentes ainsi que l'activité des enzymes dissoutes c'est à dire des enzymes libres ou associées aux colloïdes du milieu, ces dernières pouvant constituer la majeure partie de ce pool (Francko 1991, Boon 1993). La séparation des différentes activités par préfiltration sur 0,2 μm et 1 μm a été réalisée de manière à évaluer la contribution des deux communautés aux flux de phosphore et la compétition pour l'hydrolyse du POD et l'assimilation couplée de phosphate. Comme on l'a vu au chapitre Matériel & Méthodes (page 45), les faibles contributions de la chl *a* dans la fraction inférieure à 1 μm et des bactéries attachées en terme de biomasse et de production d'après les investigations d'Artigas (1997) sur la même zone suggèrent que notre fractionnement de taille sépare de façon adéquate la majorité des bactéries de la majorité des algues. Toutefois des études menées sur les protéases et les glucosidases (Karner & Herndl 1992, Middelboe et al. 1995, Smith et al. 1992, 1995) ont montré que l'activité enzymatique cellulaire spécifique des bactéries attachées pouvait être importante. Delmas et al. (en révision) ont mesuré dans le panache de la Gironde en mai 1995 des activités exoprotéolytiques de particules collectées dans un piège à particules ne représentant que 0,1 à 2 % de l'activité totale intégrée sur la colonne d'eau, ce qui laisse supposer que l'activité enzymatique des bactéries attachées serait faible dans notre zone d'étude. Par ailleurs, des résultats contradictoires sur la contribution éventuelle des protozoaires à l'activité enzymatique dissoute ou particulaire ont été trouvés pour les α -glucosidases et les aminopeptidases (Karner et al. 1994) et, à notre connaissance, leur rôle sur l'activité phosphatasique n'a pas été étudié. L'ensemble de ces indices suggère que la fraction supérieure à 1 μm est essentiellement d'origine phytoplanctonique et la fraction 0,2-1 μm représente la majorité des bactéries sur toute la période étudiée. Cependant, les bactéries et les algues participant aussi à l'activité dissoute par sécrétion active, lyse cellulaire ou broutage (Wynne & Gophen 1981, Chrost 1991), on considère que nos fractions particulières représentent la majorité de chaque communauté et non pas leur activité totale précise.

Les activités des deux communautés ont augmenté de façon spectaculaire de l'hiver au printemps à la fois en 1998 et en 1999 (Tableau 17, Fig. 35) et la contribution des algues à la V_m est toujours très supérieure (63 ± 17 % de l'APA totale en 1998 et 54 ± 10 % en 1999) à celle des bactéries (9 ± 6 % en 1998 et 12 ± 6 % en 1999) à chaque période. Ainsi en terme de

potentialité d'hydrolyse du POD, les populations algales sont majoritaires. Mais cela ne reflète pas forcément leur contribution à l'activité phosphatase réelle. Celle-ci peut être estimée pour chaque fraction grâce à la détermination à la fois des paramètres cinétiques michaéliens et des teneurs en monoesters de phosphate. Ces dernières teneurs (0,024-0,135 μM) étant inférieures au K_m de toutes les fractions (0,19-13,2 μM), la différence entre la distribution de taille de la V_m et de l'activité réelle totales est essentiellement dépendante de la différence entre les K_m des fractions. En fin février, fin avril et début octobre peu de différences ont été observées entre ces K_m , par conséquent la distribution de taille de l'activité réelle est similaire à celle de la V_m . Fin mai, les enzymes bactériennes tendent à avoir une meilleure affinité pour le substrat (K_m inférieur) que celle des algues, mais l'activité réelle estimée des algues (2,5-3,8 nM h^{-1}) reste supérieure à celle des bactéries (0,9-1,3 nM h^{-1}). Par conséquent les quelques estimations de l'activité réelle de l'APA confirmeraient la dominance des communautés algales sur l'APA totale dans le panache de la Gironde de l'hiver au printemps et en début octobre 1999. La contribution importante de l'activité dissoute ($28 \pm 19\%$ en 1998 et $34 \pm 11\%$ en 1999) est similaire aux valeurs déjà rapportées dans la littérature (Chrost & Overbeck 1987, Li et al. 1998) et plus faible que certaines valeurs élevées trouvées en lacs ($> 50\%$, Wetzel 1991) et en eaux fluviales (71-83 %, Hernandez et al. 2000). Peu d'études évaluent simultanément l'APA liée au phytoplancton et celle qui est liée aux bactéries, en particulier en eaux côtières. Dans un fjord norvégien, une tendance à une dominance des bactéries est suggérée par Thingstad et al. (1993) mais leurs résultats sont très variables. Des études approfondies en lacs (Chrost et al. 1984, Chrost & Overbeck 1987, Siuda & Chrost 1987, Berman et al. 1990) et en rivières (Boon 1993) montrent que algues et bactéries sont alternativement les principaux contributeurs avec une dominance des algues en période de blooms.

Lorsque l'on normalise les activités par la biomasse, il apparaît que leur augmentation est principalement due à une augmentation très importante des activités spécifiques des bactéries et des algues et non pas seulement à un effet biomasse (Tableau 17). Par ailleurs, ces activités ont évolué parallèlement de telle sorte qu'elles sont du même ordre de grandeur à chaque période. La comparaison de nos activités spécifiques avec des valeurs mesurées dans la littérature est délicate pour les raisons déjà invoquées précédemment. Par ailleurs, l'estimateur de biomasse utilisé est très variable puisqu'il peut s'agir de la chl *a* comme dans cette étude (Yiyong & Xinyu 1997, Li et al. 1998, Nausch 1998, Zohary & Robarts 1998), du COP

(Cotner et al. 1997) mais aussi de l'ATP (Chrost & Overbeck 1987), du phosphore cellulaire estimé de façons différentes (Currie & Kalff 1984a, Gage & Gorham 1985). La méthode de Nausch (1998) appliquée au sud de la mer Baltique est la plus proche de la nôtre avec 250 μM de MUF-P utilisé si ce n'est que son activité spécifique est calculée à partir de l'activité totale plutôt qu'à partir de la fraction algale. Ses faibles activités algales enregistrées en période de relative abondance des phosphates (0,4-2,1 $\text{nmol } \mu\text{gchl}a^{-1} \text{ h}^{-1}$) sont du même ordre de grandeur que nos activités dans les mêmes conditions (3,1, 1,1 et 3,2 en janvier 1998, fin février et début octobre 1999) et c'est également le cas en période de déplétion en phosphate avec une gamme de 4,7 à 65,5 $\text{nmol } \mu\text{gchl}a^{-1} \text{ h}^{-1}$ pour Nausch (1998) et de 11 à 149 $\text{nmol } \mu\text{gchl}a^{-1} \text{ h}^{-1}$ dans notre étude (Tableau 17). Son activité bactérienne spécifique calculée à partir de l'activité totale n'est pas comparable à la nôtre. Dans le panache de la Gironde, algues et bactéries auraient les mêmes potentialités enzymatiques par unité de biomasse pour l'hydrolyse du POD. Currie & Kalff (1984b) aboutissent aux mêmes conclusions sur des espèces d'algues et de bactéries isolées de lacs et cultivées en condition de limitation par le phosphore. Des résultats surprenants ont été trouvés par Chrost & Overbeck (1987) mesurant des activités spécifiques (par ng d'ATP) supérieures dans la fraction bactérienne en lac alors que le phytoplancton est limité en phosphore et les bactéries seraient plutôt limitées en carbone.

A l'échelle de l'écosystème girondin, les algues présentent les activités d'hydrolyse du POD les plus importantes mais en terme de compétition entre les microorganismes, les bactéries sont aussi compétitives que les algues.

4.3.3. Régulation *in situ* et *in vitro* de l'APA

En toute logique, les activités spécifiques augmentant de façon très importante entre l'hiver et le printemps, les activités algales et bactériennes (brutes) ne sont pas corrélées respectivement aux biomasses algales et bactériennes sur toute la période (Fig. 39). En revanche, la régulation de l'APA par le phosphate est mise en évidence par la relation inverse de forme hyperbolique entre l'APA, et particulièrement les activités spécifiques algales et bactériennes et les concentrations de phosphate (Fig. 40). La transition entre les faibles activités spécifiques et les activités élevées apparaît pour des teneurs en phosphate de 0,05-0,1 μM .

La forte variabilité des activités en dessous de ce seuil correspond en partie aux activités de fin avril et fin mai. Pour les deux périodes, les teneurs en phosphate sont quasi indétectables mais les activités sont plus faibles fin avril, le degré de limitation en phosphore étant probablement moins sévère qu'en fin mai. Par ailleurs, les faibles valeurs d'activité observées entre 0,03 et 0,05 μM de phosphate correspondent à des eaux en dessous de la couche de mélange dont les teneurs en phosphate sont encore assez faibles. L'activité dissoute étant d'origine algale et bactérienne (Chrost 1991), il n'est pas étonnant d'observer le même type de régulation (Fig. 40).

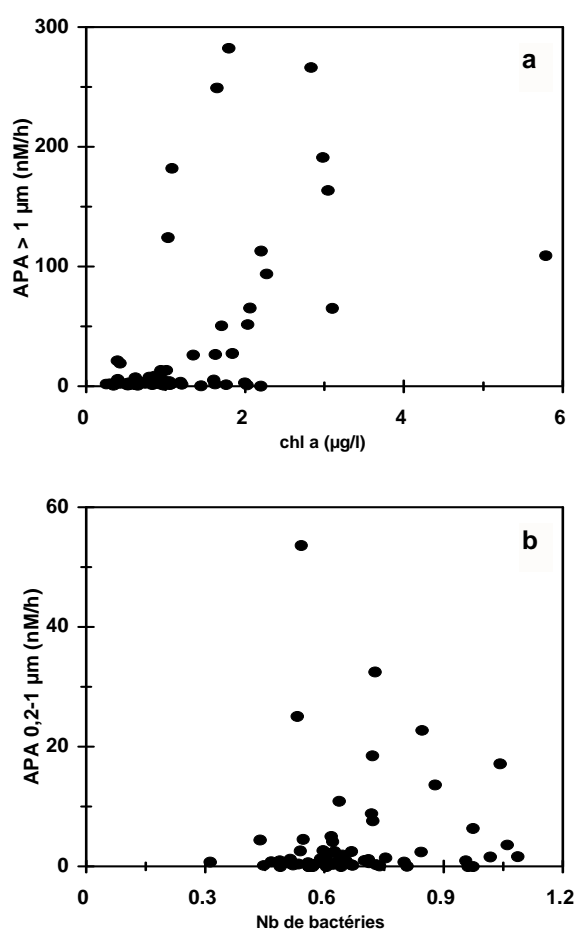


Fig. 39. Relations (a) entre les mesures *in situ* de l'APA > 1 μm et la chl *a* et (b) entre les mesures *in situ* de l'APA 0,2-1 μm et le nombre de cellules bactériennes (10^6 cellules ml^{-1}) toutes données de 1998 et de 1999 confondues.

Par ailleurs, la relation entre l'APA spécifique algale et le rapport POP:chl *a*, indicateur du phosphore intracellulaire, est également probante même si des activités élevées ont été mesurées pour des valeurs moyennes du rapport POP:chl *a* (Fig. 41).

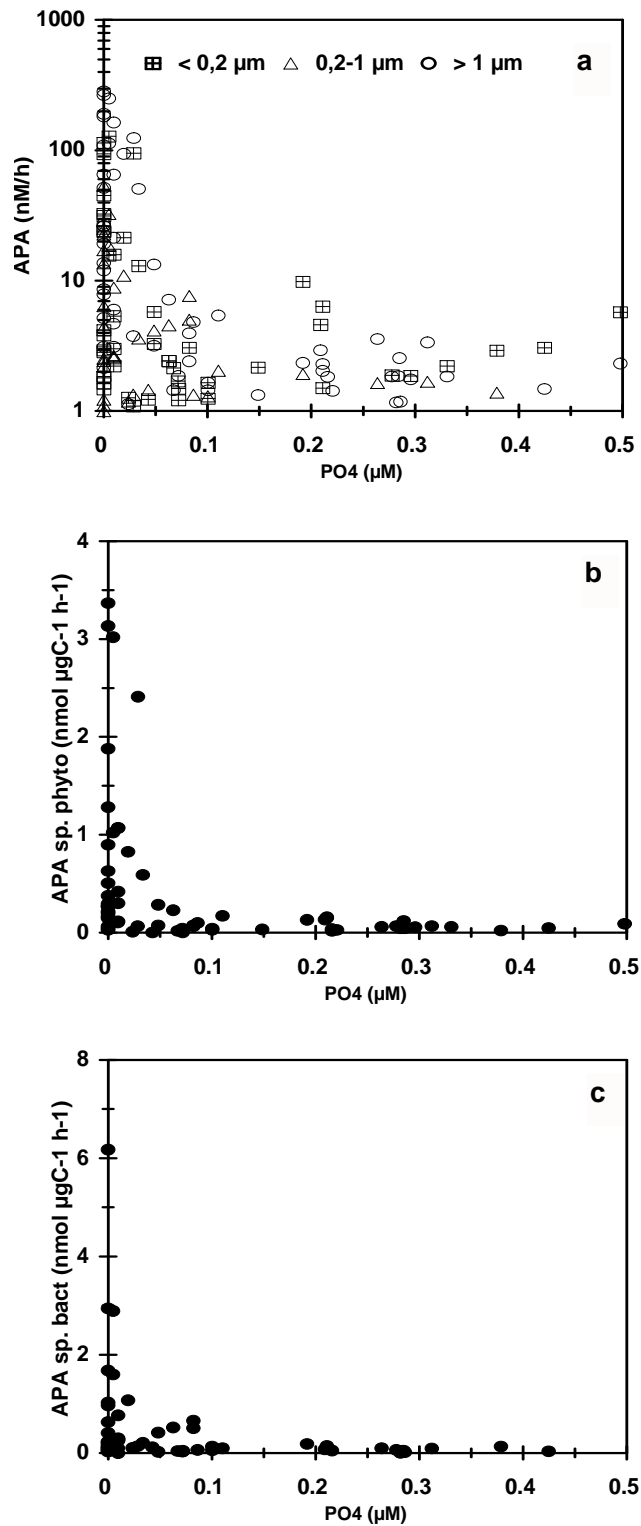


Fig. 40. Relations entre (a) les fractions de taille de l'APA, (b) l'APA spécifique phytoplanctonique, (c) l'APA spécifique bactérien et les teneurs en phosphate toutes données *in situ* de 1998 et de 1999 confondues.

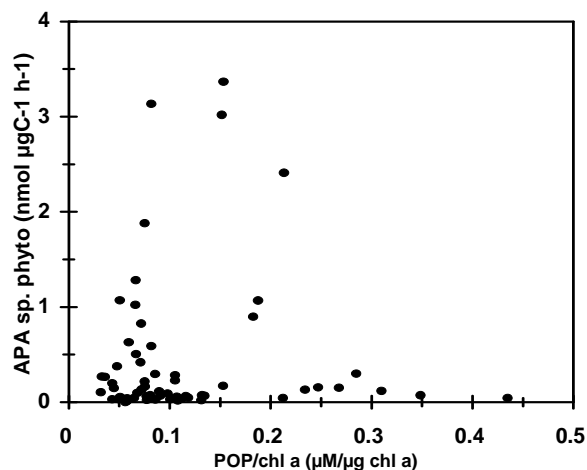


Fig. 41. Relations entre l'APA spécifique phytoplanctonique et les valeurs du rapport POP:chl *a* toutes données *in situ* de 1998 et de 1999 confondues.

De telles relations entre APA et phosphate ont été couramment établies dans les environnements qui sont limités en phosphate une partie de l'année (Berman 1970, Chrost et al. 1984, Chrost & Overbeck 1987, Siuda & Chrost 1987, Ammerman 1991, Nausch 1998). De même des relations inverses entre activités spécifiques et phosphate extracellulaire ou intracellulaire ont déjà été rapportées pour le phytoplancton en lac (Pettersson 1980, Gage & Gorham 1985, Chrost & Overbeck 1987, Siuda & Chrost 1987), en eaux côtières (Mykkestad & Sakshaug 1983) et en culture (Ruiz et al. 1997). A notre connaissance, elles ne l'ont pas été pour les bactéries. Certains n'ont pas trouvé de relation entre l'APA des bactéries et le phosphate et l'ont attribuée à la nature constitutive des phosphatases alcalines bactériennes (Siuda & Chrost 1987). D'autres ont établi une relation positive avec les teneurs en phosphate du milieu, et l'ont associée à un besoin en carbone des bactéries qui se focaliseraient plutôt sur la partie organique carbonée simultanément libérée par l'APA plutôt qu'à un besoin en phosphore (Chrost & Overbeck 1987, Hoppe & Ullrich 1999). Dans le panache de la Gironde, les communautés algales ont changé entre l'hiver, le printemps et l'automne. Il a déjà été rapporté que l'amplitude de l'APA spécifique en condition de déficience en phosphate dépendait de l'espèce considérée : Sakshaug et al. (1984) montrent ainsi que *Scrippsiella trochoidea* et *Prorocentrum minimum* ont des activités spécifiques supérieures à celles de *Amphidinium carterae* et *Ceratium tripos*. De toute évidence, dans le panache de la Gironde, les communautés algales et probablement bactériennes ont évolué vers des populations ayant

des APA spécifiques plus élevées. Par conséquent, les APA des deux communautés semblent être régulées par le phosphate.

Les mesures en bioessais confirment la régulation de l'APA phytoplanctonique par le phosphate. Dans les expériences d'enrichissement à chaque période, la structure de taille des communautés algales n'a pas changé, que ce soit dans les contrôles ou dans les échantillons (Fig. 31). On peut supposer ainsi qu'à l'échelle de quelques jours, la contribution des espèces algales initialement présentes n'a pas évolué. Par conséquent l'augmentation importante de l'activité spécifique phytoplanctonique en quelques jours dans les contrôles dépourvus de phosphate ne peut être qu'attribuée à l'induction de la synthèse de phosphatases alcalines (Fig. 37). La diminution concomitante dans l'échantillon enrichi en phosphate serait due à une répression de la synthèse de l'enzyme. Ce type de réponse en quelques jours a déjà été observé en lacs (Siuda & Chrost 1987, Rose & Axler 1998) et sur des cultures d'espèces algales (Gonzalez-Gil et al. 1998) et met en évidence la capacité d'adaptation biochimique du phytoplancton à de faibles disponibilités en phosphate. Par conséquent l'augmentation de l'activité spécifique *in situ* ne peut être attribuée seulement à un changement des communautés mais elle reflète également leur capacité de réponse à l'échelle de quelques jours. Pour ce qui est des communautés bactériennes, nous n'avons pas mesuré leur régulation en bioessai mais il a déjà été montré que l'induction et la répression de la synthèse des phosphatases alcalines bactériennes était effective à cette courte échelle de temps (Siuda & Chrost 1987, Huang et al. 1998).

Les résultats d'induction de l'APA phytoplanctonique dans les contrôles parallèlement à une stimulation de la croissance algale dans les échantillons enrichis en phosphate confirment que l'APA est un bon indicateur d'une déficience physiologique en phosphore dans le panache de la Gironde comme cela est suggéré par (Rose & Axler 1998). De plus l'augmentation saisonnière de l'APA spécifique *in situ* de l'hiver à la fin du printemps, même si elle est due en partie à des espèces différentes, semble indiquer une progression d'une limitation modérée à une limitation sévère en phosphore à la fin du printemps. De plus, le facteur d'augmentation de l'APA spécifique en bioessais entre le début et la fin de l'incubation est le plus faible en fin mai (Fig. 37). Cela semblerait indiquer que les algues ont atteint leur capacité maximale d'induction à cette période, ce qui serait effectivement un indicateur d'une limitation sévère en phosphore.

4.3.4. Origine du POD dans la colonne d'eau

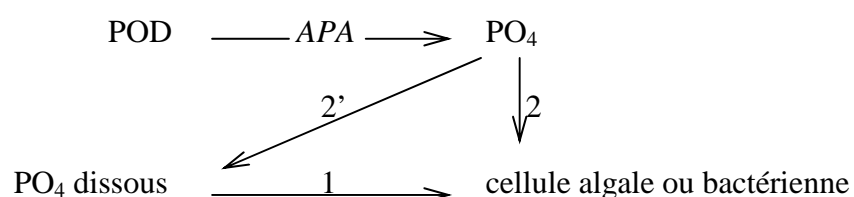
Le transfert majoritaire de phosphore, même s'il a lieu à de faibles vitesses, ce que Thinsgtad et al. (1993, 1996a) et Dolan et al. (1995) ont aussi trouvé avec la même technique, intervient majoritairement entre le compartiment bactérien et le compartiment dissous sans transfert net dans la fraction supérieure à 1 μm . A partir des résultats de ces mêmes auteurs montrant que le phosphore libéré par les bactéries (excretion, lyse,...) se retrouvent à la fois sous forme de phosphate et de POD, on peut supposer que le phytoplancton obtient en partie sa source de POD à partir de la régénération du phosphore bactérien. C'est en tout cas ce que Currie & Kalff (1984b) concluent à partir de leurs mesures du transfert lent de phosphore entre bactéries et algues et leur observation que les algues assimilent presque entièrement le ^{32}P présent dans une eau de lac marquée et filtrée et dont l'équilibre isotopique entre le plancton et le milieu était atteint. L'absence de transfert net dans la fraction supérieure à 1 μm peut s'expliquer de différentes façons : soit il n'y a effectivement pas de transfert au sein de cette fraction (artefact par confinement de nos flacons d'incubation défavorable au broutage par le zooplancton ?...), soit les transferts se compensent (assimilation de $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ -POD par les algues via l'activité de la 5'-nucléotidase peu sensible au phosphate contrairement aux phosphatases alcalines compensée par excrétion ou par « sloppy feeding » au moment du broutage par le zooplancton,...).

Ainsi l'absence de transfert net de phosphore dans les maillons supérieurs de la chaîne trophique suggère que les bactéries seraient centrales dans le cycle du phosphore. Elles domineraient l'assimilation du phosphate et libèreraient du POD via le broutage par le microzooplancton (Vadstein et al. 1993, Dolan et al. 1995), la lyse virale ou l'excrétion. Ces composés du POD seraient alors utilisés par les algues. Toutefois, les algues peuvent également obtenir leur phosphore d'autres sources potentielles, notamment en condition d'apports non homogènes en phosphate (par l'excrétion du zooplancton, Rothhaupt & Güde 1992 ; par un upwelling côtier, Suttle et al. 1990 ; par un coup de vent, Suttle et al. 1988), générant des teneurs auxquelles les algues deviennent compétitives (Suttle et al. 1990, Cf. chap précédent) ou encore par la capacité de phagotrophie des bactéries par certaines espèces mixotrophes, telles qu'*Uroglena americana* en condition de limitation en nutriment (Nygaard & Tobiesen 1993, Urabe et al. 1999).

4.3.5. Le POD satisfait-il les besoins en phosphore des microorganismes et dans quelle mesure ?

Le POD, s'il est une source potentielle de phosphate pour les microorganismes, satisfait-il les besoins de ceux-ci ? L'estimation des flux d'assimilation de phosphore à partir des productions algale et bactérienne et des rapports C:P respectifs de 106 pour les algues et de 50 pour les bactéries (valeur moyenne de la gamme 29-65, Fagerbakke et al. 1996 ; 7-70, Vadstein et al. 1993 ; 30-100, Jürgens & Güde 1990) et leur comparaison avec l'activité phosphatasique réelle estimée seraient de bons indices pour répondre à cette interrogation. Hélas nous n'avons pas de mesure systématique de l'APA réelle dans les fractions bactériennes et algales et par ailleurs la production primaire réelle n'a été estimée qu'en 1998. Par conséquent nous ne pouvons nous baser que sur quelques valeurs : en fin mai 1999, l'APA réelle bactérienne estimée (0,9-1,3 nM h⁻¹) est effectivement du même ordre de grandeur que la demande en phosphore des bactéries dans la couche de mélange (0,4-0,7 nM h⁻¹). L'APA réelle algale à cette même période (2,5-3,8 nM h⁻¹) est également dans la gamme de valeurs estimées de la demande algale en phosphore dans la couche de mélange du même type d'eau et à une période similaire en juin 1998 (0,5-10,4 nM h⁻¹). Ces résultats, même peu nombreux, sont surprenants (bonne adéquation), étant donné les incertitudes sur les différentes estimations (rapports C:P moyens des algues et des bactéries, APA réelle) et sur les méthodes utilisées (APA, production bactérienne). Au vu de ces quelques indices, le POD pourrait effectivement satisfaire les besoins des microorganismes en période de déficience en phosphate. Dans ces conditions, ne serait-il pas plus judicieux d'employer l'expression « limitation par le phosphate » plutôt que « limitation par le phosphore » ? Mais la dépense d'énergie supplémentaire que nécessite l'activité d'hydrolyse enzymatique du POD n'est-elle pas aussi *in fine* une forme de limitation par le phosphore pour les microorganismes ?

Quelle serait la part des flux totaux (1+2) d'assimilation du phosphate d'une cellule algale ou bactérienne attribuables au POD via l'hydrolyse enzymatique de la liaison monoester (voie 2) et celle attribuable au phosphate dissous du milieu (voie 1) ?



Pour répondre à cette question il faut connaître la valeur des flux d'assimilation du phosphate dissous (voie 1). La cinétique d'assimilation du phosphate est classiquement mesurée par la méthode radioisotopique. Or l'évaluation systématique de ces flux n'est pas possible à partir de cette méthode ($V_{\text{po}_4} = S_n/T_n$). En effet elle nécessite la connaissance de la concentration de phosphate (S_n), dont des valeurs inférieures à 20-30 nM fréquemment observées dans des environnements limités en phosphate sont indétectables par la méthode chimique classique. Pour contourner cette difficulté, Thingstad et al. (1996a) et Hudson et al. (2000) suggèrent l'estimation des flux de phosphate mais aussi de la teneur en phosphate à partir de la mesure de la régénération du phosphore, méthode non applicable en routine mais apportant de précieux indices sur l'ordre de grandeur de ces paramètres. Le principe est le suivant : le flux de régénération du phosphore de la fraction bactérienne est égal au taux de turnover du phosphore bactérien, évalué par la méthode utilisée pour la fraction 0,2-1 μm (Tableau 19, par exemple en fin mai dans les eaux « girondines » il est de $0,74 \text{ \% h}^{-1}$) multiplié par le phosphore de la même fraction supposé essentiellement bactérien et mesuré par ailleurs (17 nM en fin mai à la même station). A l'état d'équilibre on suppose que ce flux de régénération ($0,126 \text{ nM h}^{-1}$) est égal au flux d'assimilation du phosphate par les bactéries. Connaissant la contribution des bactéries à l'assimilation totale des microorganismes (algues et bactéries) (en fin mai 46 % du ^{33}P initialement introduit est incorporé dans les bactéries et 66 % au total l'est dans les particules), on peut retrouver ce flux d'assimilation totale V_{po_4} ($0,181 \text{ nM h}^{-1}$) et par la mesure du temps de turnover T_n (0,9 h pour la même station en fin mai 1999) on peut recalculer la concentration de phosphate (0,2 nM). Le même calcul réalisé dans les eaux « océaniques » en fin mai 1999 et dans les eaux « girondines » et « océaniques » en fin avril 1999 aboutit à des flux d'assimilation du phosphate de l'ensemble des microorganismes respectifs de 0,107, 0,422 et 0,148 nM h^{-1} et des concentrations de phosphate respectives de 1,1, 0,5 et 0,2 nM. Thingstad et al. (1993, 1996a) trouvent des teneurs en phosphate de 0,8 nM dans un fjord norvégien et dans les eaux du nord ouest de la Méditerranée (Baie de Villefranche) et Hudson et al. (2000) qui ont revisité les teneurs en phosphate de 56 lacs de l'Amérique du Nord aboutissent à une gamme de concentrations de 0,027 à 16,8 nM. Moutin (sous presse) trouvent également de très faibles teneurs en phosphate en Méditerranée, de 0,1 à 3 nM, par une méthode indirecte utilisant l'estimation des flux de phosphore à partir de la production carbonée algale et bactérienne, des rapports particuliers C:P et des temps de turnover du phosphate. Ces teneurs seraient par conséquent beaucoup plus faibles que la limite de détection de la méthode chimique classique. A partir de ces concentrations de

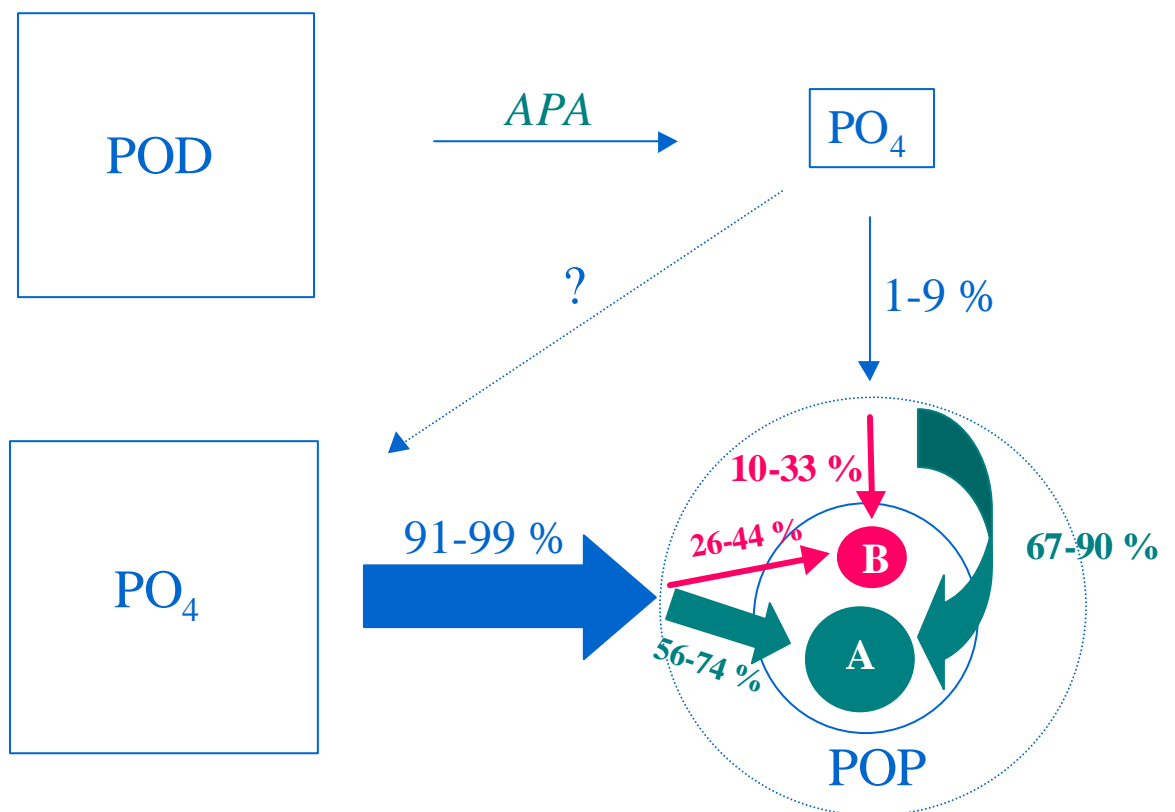
phosphate du milieu estimées (S_n), on peut recalculer les valeurs du paramètre cinétique K_t pour les algues et les bactéries en les otant des valeurs de K_t+S_n (Tableau 13). Ces teneurs en phosphate apparaissent beaucoup plus faibles que K_t , d'un ou deux ordres de grandeur, ce qui implique une très importante sous-saturation de l'assimilation du phosphate dissous par les microorganismes au printemps et montre l'inadéquation entre leurs capacités d'assimilation du phosphate dissous et les teneurs du milieu.

Pour résoudre leur besoin en phosphore, l'assimilation couplée du phosphate issu de l'hydrolyse par les phosphatases alcalines du POD semble être une alternative intéressante pour les microorganismes (voie 2). En effet, pour répondre à la question initiale de la contribution de l'APA aux flux totaux d'assimilation du phosphate, on s'aperçoit que les flux estimés d'assimilation du phosphate du milieu par la méthode radioisotopique (voie 1) sont très inférieurs à ceux de l'APA. Pourtant ils devraient l'inclure si l'on suppose que la molécule de phosphate libérée par l'hydrolyse enzymatique est redistribuée de façon homogène au sein du pool de phosphate du milieu (voie 2'). Ainsi en fin mai 1999, l'APA estimée bactérienne et algale à la même station « girondine » atteignent $1,3 \text{ nM h}^{-1}$ et $3,8 \text{ nM h}^{-1}$ alors que les flux de phosphate respectifs sont de $0,126 \text{ nM h}^{-1}$ et $0,055 \text{ nM h}^{-1}$. Cet écart illustre une stratégie supposée que développeraient les microorganismes et qui consiste en l'assimilation couplée du phosphate libéré par l'hydrolyse enzymatique (voie 2), les phosphatases liées aux microorganismes étant localisées à proximité de la membrane cytoplasmique de ceux-ci. Le phosphate ainsi ne serait pas redilué de façon homogène dans le pool de phosphate dissous, condition dans laquelle il est alors préférentiellement assimilé par les bactéries. Dans ces conditions si l'on additionne les deux flux (1+2), l'APA représenterait 91 à 99 % des flux de phosphore aux algues et aux bactéries au printemps (Fig. 42). Par comparaison en période d'abondance de phosphate où les flux d'assimilation de phosphate peuvent être évalués classiquement, l'APA ne représente que 1 à 9 % des flux totaux de phosphate (Fig. 42).

4.4. Conclusion

Si le PT intégré sur la colonne d'eau ne montre pas d'évolution saisonnière très marquée dans le panache de la Gironde (sur la zone échantillonnée), excepté en début mars 1998, la contribution des différentes formes de phosphore évolue, elle, remarquablement dans la

En période d'abondance de PO_4 (hiver)



En période de déplétion en PO_4 (printemps)

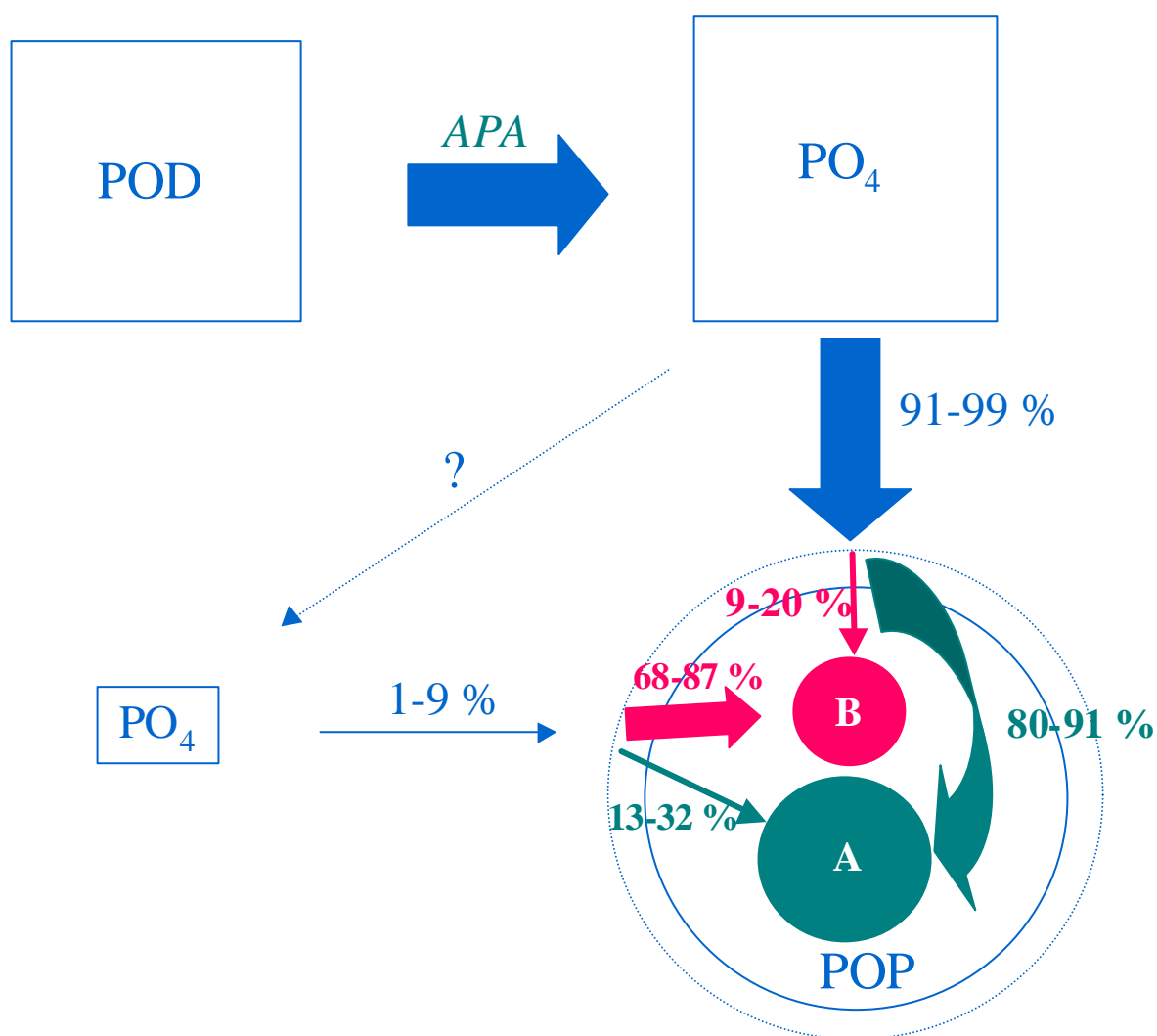


Fig. 42. Bilan des stocks et flux estimés de phosphore dans les compartiments algaux et bactériens dans deux situations contrastées, en période d'abondance de phosphate (hiver) et en période de déficience en phosphate (printemps).

couche de mélange, d'une partition à peu près égale des phosphates et du POD au pool de phosphore dissous en hiver à une dominance très nette du POD au printemps due à une déplétion des phosphates à cette période. Parallèlement, la contribution du POP au PT augmente entre l'hiver et le printemps. La potentielle labilité biologique du POD estimée par la contribution des monoesters de phosphate ainsi que l'augmentation spectaculaire de l'APA totale entre l'hiver et le printemps et le recyclage très rapide des monoesters de phosphate montrent l'utilisation potentielle de ce pool par les communautés planctoniques comme source de phosphore au printemps.

Les activités spécifiques des deux communautés algale et bactérienne augmentent de façon très importante entre l'hiver et le printemps et la relation inverse mise en évidence entre ces activités et les concentrations de phosphate montrent clairement leur régulation par le phosphate. En terme de contribution, les algues dominent l'activité totale de par leur biomasse mais en terme de compétition, les bactéries sont aussi compétitives que les algues pour l'hydrolyse du POD car elles possèdent le même équipement enzymatique (activité spécifique). Si l'augmentation des activités spécifiques algale et bactérienne peut être en partie due à une évolution des populations vers des espèces ayant un potentiel enzymatique plus important, elle reflète aussi la capacité des microorganismes d'induction de la synthèse de l'enzyme en condition de déficience en phosphate en quelques jours, comme le montrent les expériences d'enrichissement pour les algues. La source de POD pour les algues pourrait en partie provenir du compartiment bactérien, le transfert majoritaire de phosphore dans les expériences de mesure de la régénération du phosphore intervenant entre la fraction bactérienne et la fraction dissoute. Dans ces conditions les bactéries apparaissent comme centrales dans le cycle du phosphore en dominant l'assimilation des phosphates et en libérant des composés du POD.

Enfin, au vu des quelques estimations de l'APA réelle et des flux d'assimilation de phosphate, l'hydrolyse du POD représenterait 91 à 99 % des flux de phosphore dans les compartiments algaux et bactériens par assimilation couplée du phosphate libéré au printemps, en période de déficience en phosphate et pourrait satisfaire aux besoins de ces microorganismes.

Conclusion et perspectives

Le scénario initial supposant l'existence de blooms phytoplanctoniques hivernaux de type « printanier » pour des eaux tempérées (essentiellement constitués de diatomées), limités par le phosphore, puis une limitation de la croissance algale printanière par le phosphore jusqu'à ce que les sels nutritifs azotés soient épuisés à leur tour (limitation par N+P en période estivale), ce scénario a été vérifié dans les eaux du panache de la Gironde, de salinité inférieure à 34,5, pour les deux années successives 1998 et 1999. L'équilibre nutritif de ces eaux est rétabli après les premières tempêtes automnales. Les eaux en limite de panache et à caractère plus océanique ($S > 34,5$), toujours échantillonnées sur le plateau continental, présentent également des efflorescences hivernales récurrentes mais, dans ces eaux, l'azote et le phosphore pourraient contrôler la croissance algale dès la fin d'hiver-début du printemps, en été et au début de l'automne.

Dans les eaux de salinité inférieure à 34,5, les blooms hivernaux et leur limitation par le phosphore, associés à des apports girondins déséquilibrés en phosphate, favorisent le développement de cellules de petite taille au début du printemps et la présence ultérieure de blooms printaniers « atypiques », composés de pico et de nanophytoplancton (nanoflagellés). Ces blooms sont engendrés par l'enrichissement en sels nutritifs que constituent les crues printanières de la Gironde. Outre le rôle de la limitation de la croissance des diatomées par le silicate à la fin du bloom hivernal, favorisant le développement de populations dominées par les dinoflagellés, cette structuration des communautés algales est renforcée par la compétition entre le phytoplancton et les bactéries pour l'acquisition du phosphate, les bactéries étant plus compétitives (rapport surface/volume plus favorable, meilleure affinité pour le phosphate) et pouvant être elles-mêmes limitées par le phosphore à certains moments du printemps. La diminution de taille des cellules algales a une incidence sur la structure de taille de la communauté des brouteurs herbivores, dominé par le microzooplancton au printemps (Sautour et al. 2000), et probablement sur celle de l'ensemble du réseau trophique.

Une étude plus approfondie des différentes composantes du phosphore et de sa dynamique montre l'importance du compartiment organique dissous du phosphore. En effet, les concentrations relativement élevées de POD quand les phosphates sont indétectables, la potentielle labilité biologique du POD, l'augmentation spectaculaire de l'APA spécifique

phytoplanctonique et bactérienne au printemps ainsi que le recyclage rapide des monoesters de phosphate à cette saison montrent l'utilisation potentielle du POD comme source de phosphore pour les communautés planctoniques microbiennes du panache de la Gironde au printemps. En terme de contribution des communautés aux flux de POD (APA), les algues sont dominantes de par leur biomasse mais, en terme de compétition, les bactéries possèdent le même équipement enzymatique (activité spécifique) et sont par conséquent aussi compétitives que les algues pour l'hydrolyse du POD. Pour les deux types de microorganismes, au vu des quelques estimations de l'APA réelle et des flux d'assimilation de phosphate, l'hydrolyse du POD associée à l'assimilation couplée du phosphate libéré représenterait 91 à 99 % des flux de phosphore aux cellules, quand les phosphates du milieu sont déficients, et elle pourrait satisfaire aux besoins des microorganismes.

Pour l'avenir, et du point de vue de la problématique « phosphore », la réévaluation des teneurs en phosphate en milieu océanique à l'aide des méthodes suggérées par Thingstad et al. (1996a) et Hudson et al. (2000) semble indispensable. Par ailleurs, étant donnée l'importance du compartiment POD suggérée par notre étude il sera nécessaire d'approfondir les connaissances sur plusieurs aspects le concernant. On pourrait (1) mesurer les apports de fleuves en POD mais aussi en POP et en phosphate sur une échelle annuelle, (2) évaluer de façon plus systématique les teneurs en monoesters de phosphate dans les eaux côtières mais aussi dans les apports par les fleuves pour mieux appréhender la labilité biologique du POD. A partir de ces valeurs de POD labile, on pourrait (3) estimer, là aussi de façon plus systématique, l'APA réelle pour mieux apprécier la contribution du phosphate issu de l'hydrolyse du POD (assimilation couplée) aux flux totaux d'assimilation du phosphate, et (4) en mesurant également l'azote organique dissous labile, réévaluer les rapports N:P des eaux côtières en tenant compte du NOD et du POD labiles.

Pour ce qui concerne les études sur le Golfe de Gascogne la principale question qui se pose aujourd'hui est la suivante : les résultats obtenus dans le panache girondin sont-ils spécifiques à ce fleuve ou au contraire sont-ils extrapolables, et si oui dans quelle mesure, à d'autres panaches et en particulier à celui de la Loire, l'autre grand fleuve de la façade française ?

Cette question revêt une certaine importance, car nous l'avons vu, les deux façades, espagnole et française, du Golfe de Gascogne sont très différentes en terme d'apports d'eau douce à l'océan et donc de forçages physiques et trophiques de la production primaire.

Si la réponse à cette question s'avérait positive, il apparaîtrait dans le Golfe de Gascogne deux dynamiques phytoplanctoniques distinctes : des efflorescences **printanières typiques** engendrées par la stratification **thermique** et limitées par l'**azote** le long de la façade espagnole (Varela 1996) et des efflorescences **hivernales** engendrées par la stratification **haline**, limitées par le **phosphore** et suivies d'**efflorescences printanières atypiques**, le long de la façade française.

Bien sûr cette vision schématique doit être tempérée par la variabilité interannuelle des débits et des fenêtres anticycloniques qui feront varier l'importance et la localisation de ces blooms hivernaux, mais il n'empêche que le calendrier classique de la production primaire devrait être revisité pour une bonne partie des écosystèmes du plateau continental influencés par les panaches fluviaux.

D'ailleurs les premiers résultats acquis dans le cadre du « Chantier Golfe de Gascogne du PNEC » sont en faveur de cette hypothèse puisque des blooms hivernaux importants ont été observés dans la partie distale du panache de la Loire en mars 2000 par le satellite SeaWiFS (Gohin et al., comm. pers.) et en février-mars 2001 lors de la campagne NUTRIGAS (Aminot, comm. pers). Ces premiers résultats pourraient être utilement complétés par une étude statistique des fenêtres spatio-temporelles favorables à l'apparition des blooms hivernaux dans les panaches fluviaux. Cette étude permettrait d'apprécier la fréquence et l'importance de ces blooms par le passé et ainsi replacer nos résultats dans un contexte temporel. Elle pourrait aussi être validée par l'approche satellitale de la couleur de l'océan.

D'autre part, des déséquilibres dans les rapports minéraux N:P encore plus importants qu'en Gironde ont été observés très récemment dans le Golfe de Gascogne (avril-mai 2000) dans toute la zone Sud-Bretagne (Delmas 2001), supportant ainsi l'hypothèse de la limitation par le phosphore de ces écosystèmes sous influence de la Loire et des petits fleuves côtiers bretons. Là encore, une étude de l'évolution des teneurs en sels nutritifs (NO_3 , PO_4 , Si(OH)_4) au débouché des grands fleuves de la façade française au cours des 25 dernières années à partir des données existantes du Réseau National d'Observation permettrait de déterminer les

tendances sur le long terme des flux de sels nutritifs amenés par les grands fleuves à l'océan et aussi d'estimer la dérive et l'importance des déséquilibres entre les rapports N:P:Si par rapport aux rapports classiques.

Il est enfin raisonnable de penser que ces deux dynamiques phytoplanctoniques différentes auront des conséquences sur la qualité et la quantité de nourriture disponible pour les larves d'espèces de poissons exploitées dans le Golfe de Gascogne et que la force du recrutement d'une classe d'âge pourra dépendre de l'importance relative de ces deux types de fonctionnement. Des études sont en cours pour tenter de répondre à cette question d'écologie halieutique (PNEC Chantier Golfe de Gascogne 2001).

Bibliographie

- Aaronson S, Patni NJ (1976)** The role of surface and extracellular phosphatases in the phosphorus requirement of *Ochromonas*. *Limnol. Oceanogr.* 21:838-845
- Allali K, Dolan J, Rassoulzadegan F (1994)** Culture characteristics and orthophosphate excretion of a marine oligotrich ciliate, *Strombidium sulcatum*, fed heat-killed bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 105:159-165
- Aldredge AL, Cole JJ, Caron DA (1986)** Production of heterotrophic bacteria inhabiting macroscopic organic aggregates (marine snow) from surface waters. *Limnol. Oceanogr.* 31:68-78
- Alpine AE, Cloern JE (1988)** Phytoplankton growth rates in a light-limited environment, San Francisco Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 44:167-173
- Ammerman JW, Azam F (1985)** Bacterial 5'-nucleotidase in aquatic ecosystems : a novel mechanism of phosphorus regeneration. *Science* 227:1338-1340
- Ammerman JW (1991)** Role of ecto-phosphohydrolases in phosphorus regeneration in estuarine and coastal ecosystems. In : Chrost RJ (ed.) *Microbial enzymes in aquatic environments*. Springer-Verlag, New York, pp. 165-186
- Ammerman JW, Azam F (1991a)** Bacterial 5'-nucleotidase activity in estuarine and coastal marine waters : characterization of enzyme activity. *Limnol. Oceanogr.* 36:1427-1436
- Ammerman JW, Azam F (1991b)** Bacterial 5'-nucleotidase activity in estuarine and coastal marine waters : role in phosphorus regeneration. *Limnol. Oceanogr.* 36:1437-1447
- Ammerman JW (1992)** Seasonal variation in phosphate turnover in the Mississippi River plume and the inner Gulf Shelf : rapid summer turnover. Nutrient enhanced coastal ocean productivity (NECOP), Proceedings of a workshop, October 1991, pp. 69-75
- Ammerman JW (1993)** Microbial cycling of inorganic and organic phosphorus in the water column. In : Kemp PF, Sherr BF, Sherr EB, Cole JJ (eds.) *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, U.S.A., pp. 649-659
- Ammerman JW, Glover WB (2000)** Continuous underway measurement of microbial ectoenzyme activities in aquatic ecosystems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 201:1-12
- Andersen OK, Goldman JC, Caron DA, Dennett MR (1986)** Nutrient cycling in a microflagellate food chain : III. Phosphorus dynamics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 31:47-55
- Armstrong FAJ, Williams PM, Strickland JDH (1966)** Photo-oxidation of organic matter in sea water by ultra-violet radiation, analytical and others applications. *Nature* 211:481-483
- Artigas LF (1997)** Dynamique du compartiment microbien dans une aire néritique soumise à des apports continentaux importants (panache de dilution de la Gironde, sur le plateau continental aquitain). Thèse d'océanographie. Université Bordeaux I, 340 pp.
- Artigas LF (1998)** Seasonal variability in microplanktonic biomasses in the Gironde dilution plume (Bay of Biscay) : relative importance of bacteria. *Oceanol. Acta* 21:563-580
- Artigas LF, Laborde P, Sautour B, Delmas D, Herbland A (2001)** Balance of organic fluxes in the Gironde dilution plume : ecological importance of "microbial loop" and microbial foodweb processes in spring, in the photic zone. In : *Océanographie du Golfe de Gascogne*. VIIème Colloq. Int., Biarritz, 4-6 avril 2000. Elbée J (d'), Prouzet P (coord.). Ed. Ifremer, Actes Colloq. 31:126-136
- Benitez-Nelson CR (2000)** The biogeochemical cycling of phosphorus in marine systems. *Earth. Sci. Rev.* 51:109-135
- Bentzen E, Taylor WD (1991)** Estimating organic P utilization by freshwater plankton using [³²P]ATP. *J. Plankton Res.* 13:1223-1238
- Berland BR, Benzhitski AG, Burlakova ZP, Georgieva LV, Izmestieva MA, Kholodov VI, Maestrini SY (1988)** Conditions hydrologiques estivales en Méditerranée, répartition du phytoplancton et de la matière organique. In : Minas HJ, Nival P (eds.) *Océanographie pélagique méditerranéenne*. *Oceanol. Acta* Sp. 9:163-177

- Berman T (1970)** Alkaline phosphatases and phosphorus availability in Lake Kinneret. *Limnol. Oceanogr.* 15:663-674
- Berman T, Pollinger U, Gophen M (1972)** Lake Kinneret : planktonic populations during seasons of high and low phosphorus availability. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 18:588-598
- Berman T (1988)** Differential uptake of orthophosphate and organic phosphorus substrates by bacteria and algae in Lake Kinneret. *J. Plankton Res.* 10:1239-1249
- Berman T, Wynne D, Kaplan B (1990)** Phosphatases revisited : analysis of particle-associated enzyme activities in aquatic systems. *Hydrobiologia* 207:287-294
- Biseau A (1998)** Les pêcheries démersales du Golfe de Gascogne. In : Conférence IEO/IFREMER pour le développement de recherches intégrées sur le Golfe de Gascogne. Santander, 25-27 novembre 1998. Document de synthèse. pp.50-62
- Björkman K, Karl DM (1994)** Bioavailability of inorganic and organic phosphorus compounds to natural assemblages of microorganisms in Hawaiian coastal waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 111:265-273
- Björkman K, Thomson-Bulldis AL, Karl DM (2000)** Phosphorus dynamics in the North Pacific subtropical gyre. *Aquat. Microb. Ecol.* 22:185-198
- Blomqvist P (1997)** Early summer phytoplankton responses to experimental manipulations of grazing and nutrients in unlimed and limed lake Njupfatet, central Sweden. *Arch. Hydrobiol.* 140:321-346
- Boavida MJ, Heath RT (1984)** Are the phosphatases released by *Daphnia magna* components of its food ? *Limnol. Oceanogr.* 29:641-645
- Bochdanský AB, Puskarić S, Herndl GJ (1995)** Influence of zooplankton grazing on free dissolved enzymes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 121:53-63
- Boon PI (1993)** Organic matter degradation and nutrient regeneration in Australian fresh waters : III. Size fractionation of phosphatase activity. *Arch. Hydrobiol.* 126:339-360
- Brandes D, Elston RN (1956)** An electron microscopical study of the histochemical localization of alkaline phosphatase in the cell wall of *Chlorella vulgaris*. *Nature* 177:274
- Bretonnière JP, Spillman T (1984)** Alkaline phosphatases. In : Bergmeyer HU (ed.) *Methods of enzymatic analysis*. Vol 4. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 75-82
- Brink KH, the CoOP Steering Committee (1992)** Coastal Ocean Processes : a Science Prospectus. Woods Hole Oceanographic Institution Technical Report, WHOI 92-18
- Brooks SPJ (1992)** A simple computer program with statistical tests for the analysis of enzyme kinetics. *Biotechniques* 13:906-911
- Camarero L (1994)** Assay of reactive phosphorus at nanomolar levels in non-saline waters. *Limnol. Oceanogr.* 39:707-711
- Campbell FR, Thomas RF (1970)** Automated method for determining and removing silica interference in determination of soluble phosphorus in lake and stream waters. *Env. Sci. Technol.* 4:602-604
- Caron DA (1994)** Inorganic nutrients, bacteria, and the microbial loop. *Microb. Ecol.* 28:295-298
- Castaing P, Froidefond JM, Lazure P, Weber O, Prud'homme R, Jouanneau JM (1999)** Relationship between hydrology and seasonal distribution of suspended sediments on the continental shelf of the Bay of Biscay. *Deep-Sea Res.* 46:1979-2001
- Cebrian J, Valiela I (1999)** Seasonal patterns in phytoplankton biomass in coastal ecosystems. *J. Plankton Res.* 21:429-444
- Cembella AD, Antia NJ, Harrison PJ (1984a)** The utilization of inorganic and organic phosphorus compounds as nutrients by eukaryotic microalgae : a multidisciplinary perspective : Part 1. *CRC Crit. Rev. in Microb.* 10:317-391
- Cembella AD, Antia NJ, Harrison PJ (1984b)** The utilization of inorganic and organic phosphorus compounds as nutrients by eukaryotic microalgae : a multidisciplinary perspective. Part 2. *CRC Crit. Rev. in Microb.* 11:13-81
- Cescon BS, Scarazzato PG (1973)** Determination of low phosphate concentrations in seawater by an isobutyl acetate extraction procedure. *Limnol. Oceanogr.* 18:499-500

- Chamberlain W, Shapiro J (1969)** On the biological significance of phosphate analysis ; comparison of standard and new methods with a bioassay. *Limnol. Oceanogr.* 14:921-927
- Chisholm SW (1992)** Phytoplankton size. In : Falkowski PG, Woodhead AD (eds.) Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea. Plenum Press, New York, pp. 213-237
- Cho BC, Azam F (1990)** Biogeochemical significance of bacterial biomass in the ocean's eutrophic zone. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 63:253-259
- Chrost RJ, Siuda W, Halemejkó GZ (1984)** Long term studies on alkaline phosphatase activity (APA) in a lake with fish-aquaculture in relation to lake eutrophication and phosphorus cycle. *Arch. Hydrobiol. Sp.*70:1-32
- Chrost RJ, Krambeck HJ (1986)** Fluorescence correction for measurements of enzyme activity in natural waters using methylumbelliferyl-substrates. *Arch. Hydrobiol.* 106:79-90
- Chrost RJ, Overbeck J (1987)** Kinetics of alkaline phosphatase activity and phosphorus availability for phytoplankton and bacterioplankton in Lake Plußsee (North German eutrophic lake). *Microb. Ecol.* 13:229-248
- Chrost RJ (1990)** Microbial ectoenzymes in aquatic environments. In : Overbeck J, Chrost RJ (eds.) Aquatic microbial ecology : biochemical and molecular approaches. Springer-Verlag, New York, pp. 47-78
- Chrost (1991)** Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes. In : Chrost RJ (ed.) Microbial enzymes in aquatic environments. Springer-Verlag, New York, pp. 29-59
- Clark Kolowith LL, Ingall ED, Benner R (2001)** Composition and cycling of marine organic phosphorus. *Limnol. Oceanogr.* 46:309-320
- Cloern JE (1984)** Temporal dynamics and ecological significance of salinity stratification in an estuary (South San Francisco Bay, USA). *Oceanol. Acta* 7:137-141
- Cloern JE (1987)** Turbidity as a control on phytoplankton biomass and productivity in estuaries. *Cont. Shelf Res.* 7:1367-1381
- Cloern JE (1991)** Tidal stirring and phytoplankton bloom dynamics in an estuary. *J. Mar. Res.* 49:203-221
- Cloern JE, Grenz C, Lucas L (1995)** An empirical model of the phytoplankton chlorophyll:carbon ratio-the conversion factor between productivity and growth rate. *Limnol. Oceanogr.* 40:1313-1321
- Cloern JE (1999)** The relative importance of light and nutrient limitation of phytoplankton growth : a simple index of coastal ecosystem sensitivity to nutrient enrichment. *Aquat. Ecol.* 33:3-16
- Cloern JE (2001)** Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 210:223-253
- Conley DJ, Malone TC (1992)** Annual cycle of dissolved silicate in Chesapeake Bay : implications for the production and fate of phytoplankton biomass. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 81:121-128
- Conley DJ (2000)** Biogeochemical nutrient cycles and nutrient management strategies. *Hydrobiologia* 410:87-96
- Cotner JB, Wetzel RG (1991)** Bacterial phosphatases from different habitats in a small, harwater lake. In : Chrost RJ (ed.) Microbial enzymes in aquatic environments. Springer-Verlag, New York, pp. 187-205
- Cotner JB, Wetzel RG (1992)** Uptake of dissolved inorganic and organic phosphorus compounds by phytoplankton and bacterioplankton. *Limnol. Oceanogr.* 37:232-243
- Cotner JB, Ammerman JW, Peele ER, Bentzen E (1997)** Phosphorus-limited bacterioplankton growth in the Sargasso Sea. *Aquat. Microb. Ecol.* 13:141-149
- Crofton PM (1982)** Biochemistry of alkaline phosphatase isoenzymes. *CRC Crit. Rev. in Clin. Lab. Sci.* 16:161-194
- Cullen JJ (1999)** Iron, nitrogen and phosphorus in the ocean. *Nature* 402:372
- Currie DJ, Kalff J (1984a)** A comparison of the abilities of freshwater algae and bacteria to acquire and retain phosphorus. *Limnol. Oceanogr.* 29 :298-310
- Currie DJ, Kalff J (1984b)** The relative importance of bacterioplankton and phytoplankton in phosphorus uptake in freshwater. *Limnol. Oceanogr.* 29:311-321

- Currie DJ, Kalff J (1984c)** Can bacteria outcompete phytoplankton for phosphorus ? A chemostat test. *Microb. Ecol.* 10:205-216
- Currie DJ, Bentzen E, Kalff J (1986)** Does algal-bacterial phosphorus partitioning vary among lakes ? A comparative study of orthophosphate uptake and alkaline phosphatase activity in freshwater. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43:311-318
- Danovaro R (1998)** Do bacteria compete with phytoplankton for inorganic nutrients ? Possible ecological implications. *Chem. Ecol.* 14:83-96
- Del Amo Y, Le Pape O, Treguer P, Queguiner B, Menesguen A, Aminot A (1997)** Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. I. Seasonal evolution of nutrient limitation for the diatom-dominated phytoplankton of the Bay of Brest (France). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 161:213-224
- Del Amo Y, Brzezinski MA (1999)** The chemical form of dissolved Si taken up by marine diatoms. *J. Phycol.* 35:1162-1170
- D'Elia CF, Sanders JG, Boynton WR (1986)** Nutrient enrichment studies in a coastal plain estuary : phytoplankton growth in large-scale, continuous cultures. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43:397-406
- Delmas D, Herbland A, Maestrini SY (1992)** Environmental conditions which lead to increase in cell density of the toxic dinoflagellates *Dinophysis* sp. in nutrient-poor waters of the French Atlantic coast. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 89:53-61
- Delmas D, Legrand C, Bechemin C, Collinot C (1994)** Exoproteolytic activity determined by flow injection analysis : its potential importance for bacterial growth in coastal marine pond. *Aquat. Living Resour.* 7:17-24
- Delmas D (2001)** Etat d'avancement des recherches. Fiche 2. In : PNEC Chantier Golfe de Gascogne (2001) Rôle des forçages naturels et anthropiques sur les écosystèmes et les principales ressources halieutiques du Golfe de Gascogne. Rapport 2000-2001. Pp. 20-22
- Delmas D, Artigas LF, Herbland A, Laborde P, Sautour B (en révision)** Bacterial decomposition of sinking particulate organic matter collected in sediment traps. A shift from uptake to hydrolytic activities. *Aquat. Microb. Ecol.*
- Demers S, Legendre L, Therriault JC (1986)** Phytoplankton responses to vertical tidal mixing. In : Bowman MJ, Yentsch CM, Peterson WT (eds.) Tidal mixing and plankton dynamics. Springer-Verlag, Berlin, pp. 1-40
- Diaz F, Raimbault P (2000)** Nitrogen regeneration and dissolved organic nitrogen release during spring in a NW Mediterranean coastal zone (Gulf of Lions) : implications for the estimation of new production. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 197:51-65
- Diaz F, Raimbault P, Boudjellal B, Garcia N, Moutin T (2001)** Early spring phosphorus limitation of primary productivity in a NW Mediterranean coastal zone (Gulf of Lions). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 211:51-62
- Dick WA, Tabatabai MA (1977)** Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. *J. Environ. Qual.* 6:82-85
- Dodds WK, Priscu JC, Ellis BK (1991)** Seasonal uptake and regeneration of inorganic nitrogen and phosphorus in a large oligotrophic lake : size fractionation and antibiotic treatment. *J. Plankton Res.* 13:1339-1358
- Dolan JR, Thingstad TF, Rassoulzadegan F (1995)** Phosphate transfer between microbial size-fractions in Villefranche Bay (NW Mediterranean sea), France in autumn 1992. *Ophelia* 41:71-85
- Doonan BB, Jensen TE (1977)** Ultrastructural localization of alkaline phosphatase in the blue-green bacterium *Plectonema boryanum*. *J. Bact.* 132:967
- Dore JE, Houlihan T, Hebel DV, Tien G, Tupas L, Karl DM (1996)** Freezing as a method of sample preservation for the analysis of dissolved inorganic nutrients in seawater. *Mar. Chem.* 53:173-185
- Dortch Q, Whittedge TE (1992)** Does nitrogen or silicon limit phytoplankton production in the Mississippi river plume and nearby regions ? *Cont. Shelf Res.* 12:1293-1309

- Eccleston-Parry J, Leadbeater BS (1995)** Regeneration of phosphorus and nitrogen by four species of heterotrophic nanoflagellates feeding on three nutritional states of a single bacterial strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1033-1038
- Eilertsen HC (1993)** Spring blooms and stratification. *Nature* 363:24
- Elser JJ, Marzolf ER, Goldman CR (1990)** Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwaters of North America : a review and critique of experimental enrichments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47:1468-1477
- Eppley RW (1972)** Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fish Bull* 70:1063-1085
- Erga SR, Heimdal BR (1984)** Ecological studies on the phytoplankton of Korsfjorden, western Norway. The dynamics of a spring bloom seen in relation to hydrographical conditions and light regime. *J. Plankton Res.* 6:67-90
- Fagerbakke KM, Heldal M, Norland S (1996)** Content of carbon, nitrogen, oxygen, sulfur and phosphorus in native aquatic and cultured bacteria. *Aquat. Microb. Ecol.* 10:15-27
- Falkowski PG (1997)** Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological CO₂ pump in the ocean. *Nature* 387:272-275
- Falkowski PG, Raven JA (1997)** Aquatic photosynthesis. Blackwell Science, 375 pp.
- Fernandez E, Bode A (1994)** Succession of phytoplankton assemblages in relation to the hydrography in the southern Bay of Biscay : a multivariate approach. *Sci. Mar.* 58:191-205
- Fisher TR, Peele ER, Ammerman JW, Harding LW (1992)** Nutrient limitation of phytoplankton in Chesapeake Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 82:51-63
- Fitzgerald GP, Nelson TC (1966)** Extractive and enzymatic analyses for limiting or surplus phosphorus in algae. *J. Phycol.* 2:32-37
- Flynn K, Opik H, Syrett PJ (1986)** Localization of the alkaline phosphatase and 5'-nucleotidase activities of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *J. Gen. Microb.* 132:289-298
- Foreman CM, Franchini P, Sinsabaugh RL (1998)** The trophic dynamics of riverine bacterioplankton : relationships among substrate availability, ectoenzyme kinetics, and growth. *Limnol. Oceanogr.* 43:1344-1352
- Fortier L, Legendre L (1979)** Le contrôle de la variabilité à court terme du phytoplancton estuarien : stabilité verticale et profondeur critique. *J. Fish. Res. Board Can.* 36:1325-1335
- Francko DA, Heath RT (1979)** Functionally distinct classes of complex phosphorus compounds in lake water. *Limnol. Oceanogr.* 24:463-473
- Francko DA (1983)** Size fractionation of alkaline phosphatase activity in lake water by membrane filtration. *J. Fresh. Ecol.* 2:305-309
- Francko DA (1984)** Relationships between phosphorus functional classes and alkaline phosphatase activity in reservoir lakes. *J. Fresh. Ecol.* 2:541-547
- Francko DA (1991)** Filtration and buoyant density characterization of algal alkaline phosphatase. In : Chrost RJ (ed.) *Microbial enzymes in aquatic environments*. Springer-Verlag, New York, pp. 227-238
- Freeman PR, McKelvie ID, Hart BT, Cardwell TJ (1990)** Flow-injection technique for the determination of low levels of phosphorus in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 234:409-416
- Froidefond JM, Lavender S, Laborde P, Herbland A, Lafon V (sous presse)** SeaWiFS data interpretation in a coastal area in the Bay of Biscay. *Int. J. of Remote Sensing*
- Fuhrman JA, Azam F (1982)** Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters : evaluation and field results. *Mar. Biol.* 66:109-120
- Gage MA, Gorham E (1985)** Alkaline phosphatase activity and cellular phosphorus as an index of the phosphorus status of phytoplankton in Minnesota lakes. *Fresh. Biol.* 15:227-233
- Gallegos CL, Vant WN, Safi KA (1996)** Microzooplankton grazing of phytoplankton in Manukau Harbour, New Zealand. *N. Z. J. Mar. Fresh. Res.* 30:423-434
- Gambin F, Bogé G, Jamet D (1999)** Alkaline phosphatase in a littoral Mediterranean marine ecosystem : role of the main plankton size classes. *Mar. Envir. Res.* 47:441-456
- GEOHAB (2001)** Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms, Science Plan. Glibert P, Pitcher G (eds.) SCOR and IOC, Baltimore and Paris, 86 pp.

- Glibert PM, Lipschultz F, McCarthy JJ, Altabet MA (1982)** Isotope dilution models of uptake and remineralization of ammonium by marine plankton. *Limnol. Oceanogr.* 27:639-650
- Golimowski J, Golimowska K (1996)** UV-photooxidation as pretreatment step in inorganic analysis of environmental samples. *Anal. Chim. Acta* 325:111-133
- Gonzalez-Gil S, Keafer BA, Jovine RVM, Aguilera A, Lu S, Anderson DM (1998)** Detection and quantification of alkaline phosphatase in single cells of phosphorus-starved marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 164:21-35
- Gowen RJ, Tett P, Jones KJ (1992)** Predicting marine eutrophication : the yield of chlorophyll from nitrogen in Scottish coastal waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 85:153-161
- Hansen B, Koefoed Bjornsen P, Hansen PJ (1994)** The size ratio between predators and their prey. *Limnol. Oceanogr.* 39:395-403
- Hansen AL, Robinson RJ (1953)** The determination of organic phosphorus in sea water with perchloric acid oxidation. *J. Mar. Res.* 12:31-42
- Harrison PJ, Hu MH, Yang YP, Lu X (1990)** Phosphate limitation in estuarine and coastal waters of China. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 140:79-87
- Harrison WG (1983)** Uptake and recycling of soluble reactive phosphorus by marine microplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 10:127-135
- Harrison WG, Harris LR (1986)** Isotope-dilution and its effects on measurements of nitrogen and phosphorus uptake by oceanic microplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 27:253-261
- Healey FP, Henzel LL (1980)** Physiological indicators of nutrient deficiency in lake phytoplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37:442-453
- Hecky RE, Kilham P (1988)** Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments : a review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnol. Oceanogr.* 33:796-822
- Henrichs S, Bond N, Garvine R, Kineke G, Lohrenz S (2000)** Coastal Ocean Processes (CoOP) : Transport and transformation processes over continental shelves with substantial freshwater inflows. CoOP Report Number 7, 131 pp.
- Herbland A, Delmas D, Laborde P, Sautour B, Artigas F (1998)** Phytoplankton spring bloom of the Gironde plume waters in the Bay of Biscay : early phosphorus limitation and food-web consequences. In : Océanographie du Golfe de Gascogne. Vème Colloq. Int., La Rochelle, 16-18 avril 1996. Herbland A, Quérou JC (coord.). Actes Colloq., *Oceanol. Acta* 21:279-291
- Hermida JE (1997)** Dispersion des eaux estuariennes de la Gironde sur le plateau continental. Thèse d'océanographie. Université Bordeaux I, 178 pp.
- Hernandez I, Perez-Pastor A, Perez Llorens JL (2000)** Ecological significance of phosphomonoesters and phosphomonoesterase activity in a small Mediterranean river and its estuary. *Aquat. Ecol.* 34:107-117
- Heron J (1962)** Determination of phosphate in water after storage in polyethylene. *Limnol. Oceanogr.* 7:316-321
- Hino S (1988)** Fluctuation of algal alkaline phosphatase activity and the possible mechanisms of hydrolysis of dissolved organic phosphorus in Lake Barato. *Hydrobiologia* 157:77-84
- Hitchcock GL, Smayda TJ (1977)** The importance of light in the initiation of the 1972-1973 winter-spring diatom bloom in Narragansett Bay. *Limnol. Oceanogr.* 22:126-131
- Holm-Hansen O, Lorenzen CJ, Holmes RW, Strickland JDH (1965)** Fluorometric determination of chlorophyll. *J. Cons. Perm. Int. Expl. Mer* 30:3-15
- Holmboe N, Jensen HS, Andersen FO (1999)** Nutrient addition bioassays as indicators of nutrient limitation of phytoplankton in an eutrophic estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 186:95-104
- Hoppe HG (1993)** Use of fluorogenic model substrates for extracellular enzyme activity (EEA) measurement of bacteria. In : Kemp PF, Sherr BF, Sherr EB, Cole JJ (eds.) *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, USA, pp. 423-431
- Hoppe HG, Ullrich S (1999)** Profiles of ectoenzymes in the Indian Ocean : phenomena of phosphatase activity in the mesopelagic zone. *Aquat. Microb. Ecol.* 19:139-148

- Huang CT, Xu KD, McFeters GA, Stewart PS (1998)** Spatial patterns of alkaline phosphatase expression within bacterial colonies and biofilms in response to phosphate starvation. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:1526-1531
- Huber AL, Kidby DK (1984)** An examination of the factors involved in determining phosphatase activities in estuarine water. 1. Analytical procedures. *Hydrobiologia* 111:3-11
- Hudson JJ, Taylor WD (1996)** Measuring regeneration of dissolved phosphorus in planktonic communities. *Limnol. Oceanogr.* 41:1560-1565
- Hudson JJ, Taylor WD, Schindler DW (2000)** Phosphate concentrations in lakes. *Nature* 406:54-56
- Huisman J, Van Oostveen P, Weissing FJ (1999)** Critical depth and critical turbulence : two different mechanisms for the development of phytoplankton blooms. *Limnol. Oceanogr.* 44:1781-1787
- Hutchinson GE (1961)** The paradox of the plankton. *Am. Nat.* 95:137-145
- Jackson GA, Williams PM (1985)** Importance of dissolved organic nitrogen and phosphorus to biological nutrient cycling. *Deep-Sea Res.* 32:223-235
- Jansson M (1993)** Uptake, exchange and excretion of orthophosphate in phosphate starved *Scenedesmus quadricauda* and *Pseudomonas* K7. *Limnol. Oceanogr.* 38:1162-1178
- Jansson M, Blomqvist P, Jonsson A, Bergström AK (1996)** Nutrient limitation of bacterioplankton, autotrophic and mixotrophic phytoplankton, and heterotrophic nanoflagellates in Lake Orträsket. *Limnol. Oceanogr.* 41:1552-1559
- Jassby AD, Platt T (1976)** Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 21:540-547
- Jeffrey SW, Humphrey GF (1975)** New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 167:191-194
- Jellison R, Melack JM (1993)** Algal photosynthetic activity and its response to meromixis in hypersaline Mono Lake, California. *Limnol. Oceanogr.* 38:818-837
- Jitts HR, Morel A, Saijo Y (1976)** The relation of oceanic primary production to available photosynthesis irradiance. *Aust. J. Mar. Fresh. Res.* 27:441-454
- Johnson DL (1971)** Simultaneous determination of arsenate and phosphate in natural waters. *Env. Sci. Technol.* 5:411-414
- Jouanneau JM, Weber O, Cremer M, Castaing P (1999)** Fine-grained sediment budget on the continental margin of the Bay of Biscay. *Deep-Sea Res.* 46:2205-220
- Jürgens K, Güde H (1990)** Incorporation and release of phosphorus by planktonic bacteria and phagotrophic flagellates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 59:271-284
- Karl DM, Tien G (1992)** MAGIC : A sensitive and precise method for measuring dissolved phosphorus in aquatic environments. *Limnol. Oceanogr.* 37:105-116
- Karl DM, Letelier R, Hebel D, Tupas L, Dore J, Christian J, Winn C (1995)** Ecosystem changes in the North Pacific subtropical gyre attributed to the 1991-92 El Niño. *Nature* 373:230-234
- Karl D, Letelier R, Tupas L, Dore J, Christian J, Hebel D (1997)** The role of nitrogen fixation in biogeochemical cycling in the subtropical North Pacific Ocean. *Nature* 388:533-538
- Karl DM, Tien G (1997)** Temporal variability in dissolved phosphorus concentrations in the subtropical North Pacific Ocean. *Mar. Chem.* 56:77-96
- Karl DM, Yanagi K (1997)** Partial characterization of the dissolved organic phosphorus pool in the oligotrophic North Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.* 42:1398-1405
- Karl DM (2000a)** A new source of "new" nitrogen in the sea. *Trends Microbiol.* 8:301
- Karl DM (2000b)** Phosphorus, the staff of life. *Nature* 406:31-33
- Karl DM, Björkman KM, Dore JE, Fujieki L, Hebel DV, Houlihan T, Letelier RM, Tupas LM (2001)** Ecological nitrogen-to-phosphorus stoichiometry at station ALOHA. *Deep-Sea Res.* 48:1529-156
- Karner M, Herndl GJ (1992)** Extracellular enzymatic activity and secondary production in free-living and marine-snow-associated bacteria. *Mar. Biol.* 113:341-347

- Karner M, Ferrier-Pagès C, Rassoulzadegan F (1994)** Phagotrophic nanoflagellates contribute to occurrence of α -glucosidase and aminopeptidase in marine environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 114:237-244
- Kérouel R, Aminot A (1996)** Model compounds for the determination of organic and total phosphorus dissolved in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 318:385-390
- Kirchman DL (1994)** The uptake of inorganic nutrients by heterotrophic bacteria. *Microb. Ecol.* 28:255-271
- Kobori H, Taga N (1979)** Phosphatase activity and its role in the mineralization of organic phosphorus in coastal sea water. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 36:23-39
- Koroleff F (1977)** Simultaneous persulfate oxidation of phosphorus and nitrogen compounds in water. In : Grasshoff K (ed.) Report of the Baltic Intercalibration Workshop, Annex, Kiel, pp. 52-53
- Koroleff F (1983)** Determination of phosphorus. In : Grasshoff K, Ehrherd M, Kremling K (eds.) Methods of seawater analysis. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 125-139
- Koseff JR, Holen JK, Monismith SG, Cloern JE (1993)** Coupled effects of vertical mixing and benthic grazing on phytoplankton populations in shallow, turbid estuaries. *J. Mar. Res.* 51:843-868
- Krom MD, Kress N, Brenner S (1991)** Phosphorus limitation of primary productivity in the eastern Mediterranean Sea. *Limnol. Oceanogr.* 36:424-432
- Kudela RM, Cochlan WP (2000)** Nitrogen and carbon uptake kinetics and the influence of irradiance for a red tide bloom off southern California. *Aquat. Microb. Ecol.* 21:31-47
- Kuenzler EJ (1970)** Dissolved organic phosphorus excretion by marine phytoplankton. *J. Phycol.* 6:7-13
- Laborde P, Artigas LP, Delmas D, Herbland A, Sautour B (1996)** Les flux de particules biogéniques à la base de la couche euphotique dans le panache de dilution de la Gironde (plateau continental français, Golfe de Gascogne) : situations printanières. In : Océanographie du Golfe de Gascogne. Vème Colloq. Int., La Rochelle, 16-18 avril 1996.
- Labry C (1997)** Etude de la dynamique du phosphore dans les eaux côtières atlantiques : mise au point de la méthode à l'aide du radiotracer $^{33}\text{P-PO}_4^{3-}$ dans un marais maritime. Application au panache de la Gironde. Rapport de DEA Sciences de l'Environnement Marin. Université Aix Marseille II, 39 pp.
- Lazure P, Jegou AM (1998)** 3D modelling of seasonal evolution of Loire and Gironde plumes on Biscay Bay continental shelf. In : Océanographie du Golfe de Gascogne. Vème Colloq. Int., La Rochelle, 16-18 avril 1996. Herbland A, Quéro JC (coord.). Actes Colloq., *Oceanol. Acta* 21:165-177
- Lean DRS, Nalewajko C (1976)** Phosphate exchange and organic phosphorus excretion by freshwater algae. *J. Fish. Res. Board Can.* 33:1312-1323
- Lean DRS, Burnisson BK (1979)** An evaluation of errors in the ^{14}C method of primary production measurement. *Limnol. Oceanogr.* 24:917-928
- Lean DRS, White E (1983)** Chemical and radiotracer measurements of phosphorus uptake by lake plankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40:147-155
- Lean DRS, Abbott AA, Pick FR (1987)** Phosphorus deficiency of Lake Ontario plankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44:2069-2076
- Lebo ME (1990)** Phosphate uptake along a coastal plain estuary. *Limnol. Oceanogr.* 35:1279-1289
- Lee S, Fuhrman JA (1987)** Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:1298-1303
- Lehman JT (1980)** Release and cycling of nutrients between planktonic algae and herbivores. *Limnol. Oceanogr.* 25:620-632
- Levasseur ME, Therriault JC (1987)** Phytoplankton biomass and nutrient dynamics in a tidally induced upwelling : the role of the $\text{NO}_3:\text{SiO}_4$ ratio. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 39:87-97
- Lewis MR, Smith JC (1983)** "Photosynthetron" : a small volume, short-incubation time method for measurement of photosynthesis as a function of incident irradiance. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 13:99-102

- Li H, Veldhuis MJW, Post AF (1998)** Alkaline phosphatase activities among planktonic communities in the northern Red Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 173:107-115
- Lignell R, Kaitala S, Kuosa H (1992)** Factors controlling phyto- and bacterioplankton in late spring on a salinity gradient in the northern Baltic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 84:121-131
- Linden G, Chapelet-Tordo D, Lazdunski M (1977)** Milk alkaline phosphatase, stimulation by Mg^{2+} and properties of the Mg^{2+} site. *Bioch. Biophys. Acta* 483:100-106
- Longhurst A (1998)** Ecological geography of the sea. Academic Press, San Diego, 398 pp.
- Lucas LV, Cloern JE, Koseff JR, Monismith SG, Thompson JK (1998)** Does the Sverdrup critical depth explain bloom dynamics in estuaries ? *J. Mar. Res.* 56:375-415
- Malone TC, Crocker LH, Pike SE, Wendler BW (1988)** Influences of river flow on the dynamics of phytoplankton production in a partially stratified estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 48:235-249
- Mann KH, Lazier JRN (1996)** Dynamics of marine ecosystems. Biological-physical interactions in the oceans. Blackwell Science, 394 pp.
- Martin JH (1970)** Phytoplankton-zooplankton relationships in Narragansett Bay. IV. The seasonal importance of grazing. *Limnol. Oceanogr.* 15:413-418
- Martinez J, Azam F (1993)** Periplasmic aminopeptidase and alkaline phosphatase activities in a marine bacterium : implications for substrate processing in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 92:89-97
- McKelvie ID, Peat DMW, Worsfold PJ (1995)** Techniques for the quantification and speciation of phosphorus in natural waters. *Anal Proc Including Anal Comm* 32:437-445
- McKelvie ID (2000)** Analysis of phosphates. In : Nollet LML (ed.) Handbook of water analysis. Marcel Dekker, New York, pp. 273-295
- Menzel DW, Corwin N (1965)** The measurement of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fractions by persulfate oxidation. *Limnol. Oceanogr.* 10:280-282
- Michaels AF, and others (1994)** Seasonal patterns of ocean biogeochemistry at the U.S. JGOFS Bermuda Atlantic Time series Study site. *Deep-Sea Res.* 41:1013-1038
- Michel P, Boutier B, Chiffolleau JF (2000)** Net fluxes of dissolved Arsenic, Cadmium, Copper, Zinc, Nitrogen and Phosphorus from the Gironde estuary (France) : seasonal variations and trends. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 51:451-462
- Middelboe M, Sondergaard M, Letarte Y, Borch NH (1995)** Attached and free-living bacteria : production and polymer hydrolysis during a diatom bloom. *Microb. Ecol.* 29:231-248
- Millero FJ (1996)** Micronutrients in the oceans. In : Millero FJ (ed.) Chemical oceanography. Second edition. CRC Press, Boca Raton, pp. 281-305
- Monaghan EJ, Ruttenberg KC (1999)** Dissolved organic phosphorus in the coastal ocean : reassessment of available methods and seasonal phosphorus profiles from the Eel River Shelf. *Limnol. Oceanogr.* 44:1702-1714
- Montresor M, Smetacek V (2001)** The impact of harmful algal blooms in natural and human-modified systems of northern Europe. In : Wefer G, Berger W (eds.) Past climate and its significance for history of NW Europe, the last 10000 years. Springer-Verlag, Heidelberg
- Morel A, Smith RC (1974)** Relation between total quanta and total energy for aquatic photosynthesis. *Limnol. Oceanogr.* 19:591-600
- Morel FMM, Hudson RJ, Price NM (1991)** Limitation of production by trace metal in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 36:1742-1755
- Morin P, Le Corre P, Marty Y, L'Helguen S (1991)** Evolution printanière des éléments nutritifs et du phytoplancton sur le plateau continental armoricain (Europe du Nord-Ouest). *Oceanol. Acta* 14:263-279
- Mortazavi B, Iverson RL, Landing WM, Huang W (2000)** Phosphorus budget of Apalachicola Bay : a river-dominated estuary in the northeastern Gulf of Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 198:33-42
- Moutin T, Raimbault P, Golterman HL, Coste B (1998)** The input of nutrients by the Rhone river into the Mediterranean Sea : recent observations and comparison with earlier data. *Hydrobiologia* 373-374:237-246

- Moutin T (sous presse)** Cycle biogéochimique du phosphate : rôle dans le contrôle de la production planctonique et conséquences sur l'exportation de carbone de la couche éclairée vers l'océan profond. *Océanis*
- Murphy J, Riley JP (1962)** A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27:31-36
- Mykkestad S, Sakshaug E (1983)** Alkaline phosphatase activity of *Skeletonema costatum* populations in the Trondheimsfjord. *J. Plankton Res.* 5:557-564
- Nanny MA, Minear RA (1997)** Characterization of soluble unreactive phosphorus using ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Mar. Geol.* 139:77-94
- Nausch M (1998)** Alkaline phosphatase activities and the relationship to inorganic phosphate in the Pomeranian Bight (southern Baltic Sea). *Aquat. Microb. Ecol.* 16:87-94
- Nelson DM, Smith WO Jr (1991)** Sverdrup revisited : critical depths, maximum chlorophyll levels, and the control of Southern Ocean productivity by the irradiance-mixing regime. *Limnol. Oceanogr.* 36:1650-1661
- Nygaard K, Tobiesen A (1993)** Bacterivory in algae : a survival strategy during nutrient limitation. *Limnol. Oceanogr.* 38:273-279
- Obata A, Ishizaka J, Endoh M (1996)** Global verification of critical depth theory for phytoplankton bloom with climatological *in situ* temperature and satellite ocean color data. *J. G. Res.* 101:20657-20667
- Ormaza-Gonzalez FI, Statham PJ (1996)** A comparison of methods for the determination of dissolved and particulate phosphorus in natural waters. *Water Res.* 30:2739-2747
- OSPAR Commission (2000)** Quality Status Report 2000 : Region IV-Bay of Biscay and Iberian coast. OSPAR Commission, London, 134 pp.
- Oviatt C, Doering P, Nowicki B, Reed L, Cole J, Frithsen J (1995)** An ecosystem level experiment on nutrient limitation in temperate coastal marine environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 116:171-179
- Paasche E, Erga SR (1988)** Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton in the inner Oslofjord (Norway). *Sarsia* 73:229-243
- Pennock JR (1985)** Chlorophyll distributions in the Delaware estuary : regulation by light-limitation. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 21:711-725
- Pennock JR, Sharp JH (1994)** Temporal alternation between light- and nutrient-limitation of phytoplankton production in a coastal plain estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 111:275-288
- Perry MJ (1972)** Alkaline phosphatase activity in subtropical Central North Pacific waters using a sensitive fluorometric method. *Mar. Biol.* 15:113-119
- Perry MJ (1976)** Phosphate utilization by an oceanic diatom in phosphorus limited chemostat culture and in the oligotrophic waters of the Central North Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.* 21:88-107
- Peters R, Lean D (1973)** The characterization of soluble phosphorus released by limnetic zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 18:270-279
- Pettersson K, Jansson M (1978)** Determination of phosphatase activity in lake water - a study of methods. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 20:1226-1230
- Pettersson K (1980)** Alkaline phosphatase activity and algal surplus phosphorus as phosphorus-deficiency indicators in Lake Erken. *Arch. Hydrobiol.* 89:54-87
- Platt T, Juahari P, Sathyendranath S (1992)** The importance and measurement of new production. In : Falkowski PG, Woodhead AD (eds.) *Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea*. Plenum Press, New York, pp. 273-284
- PNEC Chantier Golfe de Gascogne (2000)** Rôle des forçages naturels et anthropiques sur les écosystèmes et les principales ressources halieutiques du Golfe de Gascogne. Présentation générale. *Actions 2000*. 63 pp.
- PNEC Chantier Golfe de Gascogne (2001)** Rôle des forçages naturels et anthropiques sur les écosystèmes et les principales ressources halieutiques du Golfe de Gascogne. *Rapport 2000-2001*. 59 pp.

- Pomeroy LR, Mathews HM, Min HS (1963)** Excretion of phosphate and soluble organic phosphorus compounds by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 8:50-55
- Pondaven P (1997)** Modélisation couplée physique-biogéochimie de la pompe à silicium dans l'océan austral. Comparaison avec le Pacifique Nord et l'Atlantique Nord. Thèse d'océanographie biologique. Université Paris VI, 348 pp.
- Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE (1989)** Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents : verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 975:384-394
- Porter KG, Feig YS (1980)** The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.* 25:943-948
- Pratt DM (1965)** The winter-spring diatom flowering in Narragansett Bay. *Limnol. Oceanogr.* 10:173-184
- Prego R, Vergara J (1998)** Nutrient fluxes to the Bay of Biscay from Cantabrian rivers (Spain). *Oceanol. Acta* 21:271-278
- Proctor CM, Hood DW (1954)** Determination of inorganic phosphate in the sea water by an isobutanol extraction procedure. *J. Mar. Res.* 13:122-131
- Pujo-Pay M, Raimbault P (1994)** Improvement of the wet-oxidation procedure for simultaneous determination of particulate organic nitrogen and phosphorus collected on filters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 105:203-207
- Pujo-Pay M (1995)** L'azote et le phosphore en milieu marin. Importance des formes organiques en milieu océanique du large. Thèse d'océanologie. Université Aix Marseille II, 164 pp.
- Radach G, Berg J, Hagmeier E (1990)** Long-term changes of the annual cycles of meteorological, hydrographic, nutrient and phytoplankton time series at Helgoland and at LV ELBE 1 in the German Bight. *Cont. Shelf Res.* 10:305-328
- Ragueneau O, Quéguiner B, Tréguer P (1996)** Contrast in biological responses to tidally-induced vertical mixing for two macrotidal ecosystems of Western Europe. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 42:645-665
- Redfield AC, Ketchum BH, Richards FA (1963)** The influence of organisms on the composition of sea-water. In : Hill MN (ed) *The sea, Vol 2. The composition of sea-water comparative and descriptive oceanography.* Interscience Publishers, New York, pp. 26-77
- Reichardt W, Overbeck J, Steubing L (1967)** Free dissolved enzymes in lake waters. *Nature* 216:1345-1347
- Rengefors K, Hauper C, Ruttenberg K, Taylor C, Howes B, Anderson D (2000)** Species-specific alkaline phosphatase activity of a natural freshwater phytoplankton community following nutrient enrichment. In : American Society of Limnology and Oceanography. Aquatic Sciences Meeting. Research across boundaries. Copenhagen, 5-9 juin 2000
- Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO) (1989-1990)** Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ministère de l'Environnement et IFREMER (eds.). Instaprint, Tours, pp. 7-13
- Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO) (1992-1993)** Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ministère de l'Environnement et IFREMER (eds.) Instaprint, Tours, pp. 9-13
- Ridal JJ, Moore RM (1990)** A re-examination of the measurement of dissolved organic phosphorus in seawater. *Mar. Chem.* 29:19-31
- Ridal JJ, Moore RM (1992)** Dissolved organic phosphorus concentrations in the northeast subarctic Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.* 37:1067-1075
- Riemann B, Sondergaard M (1986)** Regulation of bacterial secondary production in two eutrophic lakes and in experimental enclosures. *J. Plankton Res.* 8:519-536
- Riemann B, Simonsen P, Stensgaard L (1989)** The carbon and chlorophyll content of phytoplankton from various regimes. *J. Plankton Res.* 11:1037-1045
- Riegman R, Kuipers BR, Noordeloos AAM, Witte HJ (1993)** Size-differential control of phytoplankton and the structure of plankton communities. *Neth. J. Sea Res.* 31:255-265

- Rigler FH (1956)** A tracer study of the phosphorus cycle in lake water. *Ecology* 37:550-562
- Rigler FH (1968)** Further observations inconsistent with the hypothesis that the molybdenum blue method measures inorganic phosphorus in lake water. *Limnol. Oceanogr.* 13:7-13
- Riley GA (1957)** Phytoplankton of the North Central Sargasso Sea. *Limnol. Oceanogr.* 2:252-270
- Rivkin RB, Swift E (1979)** Diel and vertical patterns of alkaline phosphatase activity in the oceanic dinoflagellate *Pyrocystis noctiluca*. *Limnol. Oceanogr.* 24:107-116
- Rivkin RB, Swift E (1980)** Characterization of alkaline phosphatase and organic phosphorus utilization in the oceanic dinoflagellate *Pyrocystis noctiluca*. *Mar. Biol.* 61:1-8
- Rivkin RB, Anderson MR (1997)** Inorganic nutrient limitation of oceanic bacterioplankton. *Limnol. Oceanogr.* 42:730-740
- Rose C, Axler RP (1998)** Uses of alkaline phosphatase activity in evaluating phytoplankton community phosphorus deficiency. *Hydrobiologia* 361:145-156
- Rothhaupt KO, Güde H (1992)** The influence of spatial and temporal concentration gradients on phosphate partitioning between different size fractions of plankton : further evidence and possible causes. *Limnol. Oceanogr.* 37:739-749
- Rudek J, Paerl HW, Mallin MA, Bates PW (1991)** Seasonal and hydrological control of phytoplankton nutrient limitation in the lower Neuse River Estuary, North Carolina. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 75:133-142
- Ruiz RG, Hernandez I, Lucena J, Niell FX (1997)** Preliminary studies on the significance of alkaline phosphatase activity in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin. *Sci. Mar.* 61:517-525
- Ryther JH, Dunstan WM (1971)** Nitrogen, phosphorus and eutrophication in the coastal marine environment. *Science* 171:1008-1013
- Sakshaug E, Granéli E, Elbrächter M, Kayser H (1984)** Chemical composition and alkaline phosphatase activity of nutrient-saturated and P-deficient cells of four marine dinoflagellates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 77:241-254
- Sakshaug E, Bricaud A, Dandonneau Y, Falkowski PG, Kiefer DA, Legendre L, Morel A, Parslow J, Takahashi M (1997)** Parameters of photosynthesis : definitions, theory and interpretation of results. *J. Plankton Res.* 19:1637-1670
- Sathyendranath S, Platt T (1994)** New production and mixed-layer physics. *Proc. Ind. Acad. Sci.* 103:177-188
- Sautour B, Artigas F, Herbland A, Laborde P (1996)** Zooplankton grazing impact in the plume dilution of the Gironde estuary (France) prior to the spring bloom. *J. Plankton Res.* 18:835-853
- Sautour B, Artigas LF, Delmas D, Herbland A, Laborde P (2000)** Grazing impact of micro- and mesozooplankton during a spring situation in coastal waters off the Gironde estuary. *J. Plankton Res.* 22:531-552
- Schindler DW (1977)** Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science* 195:260-262
- Schomburg D (2001)** BRENDA, the enzyme database. BRENDA:3.1.3.1. [http://srs.ebi.ac.uk/srs6bin/cgi-bin/wgetz?-e+\[BRENDA:'3.1.3.1'\]](http://srs.ebi.ac.uk/srs6bin/cgi-bin/wgetz?-e+[BRENDA:'3.1.3.1']) (page consultée le 28 août 2001)
- Scor-Unesco (1966)** Determination of photosynthetic pigments in seawater. *Monogr. Oceanog. Method.* Vol. 1. UNESCO, Paris, pp. 11-18
- Shan Y, McKelvie ID, Hart BT (1993)** Characterization of immobilized *Escherichia coli* alkaline phosphatase reactors in flow injection analysis. *Anal. Chem.* 65:3053-3060
- Shan Y, McKelvie ID, Hart BT (1994)** Determination of alkaline phosphatase-hydrolyzable phosphorus in natural water systems by enzymatic flow injection. *Limnol. Oceanogr.* 39:1993-2000
- Sheppard CW (1962)** Elementary principles of the tracer method. In : Sheppard CW (ed.) *Basic principles of the tracer method.* Wiley, New York, pp. 1-29
- Sieburth JMcN, Smetacek V, Lenz J (1978)** Pelagic ecosystem structure : Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnol. Oceanogr.* 23:1256-1263

- Simon M, Azam F (1989)** Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 51:201-213
- Simon M, Cho BC, Azam F (1992)** Significance of bacterial biomass in lakes and the ocean : comparison to phytoplankton biomass and biogeochemical implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 86:103-110
- Simpson JH, Brown J, Matthews J, Allen G (1990)** Tidal straining, density currents, and stirring in the control of estuarine stratification. *Estuaries* 13:125-132
- Sinsabaugh RL, Findlay S, Franchini P, Fisher D (1997)** Enzymatic analysis of riverine bacterioplankton production. *Limnol. Oceanogr.* 42:29-38
- Siuda W, Chrost RJ (1987)** The relationship between alkaline phosphatase (APA) activity and phosphate availability for phytoplankton and bacteria in Eutrophic lakes. *Acta Microb. Pol.* 36:247-257
- Slawyk G (1980)** L'absorption de composés azotés par le phytoplancton marin : rôle dans la production primaire, relation avec la photosynthèse et les variables du milieu extra- et intracellulaire. Thèse d'océanologie. Université Aix Marseille II, 213 pp.
- Slawyk G, Raimbault P (1995)** Simple procedure for simultaneous recovery of dissolved inorganic and organic nitrogen in ¹⁵N tracer experiments and improving the isotopic mass balance. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 124:289-299
- Smetacek V, Passow U (1990)** Spring bloom initiation and Sverdrup's critical-depth model. *Limnol. Oceanogr.* 35:228-234
- Smith DC, Simon M, Alldredge AL, Azam F (1992)** Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution. *Nature* 359:139-142
- Smith DC, Steward GF, Long RA, Azam F (1995)** Bacterial mediation of carbon fluxes during a diatom bloom in a mesocosm. *Deep-Sea Res.* 42:75-97
- Smith REH, Kalff J (1981)** The effect of phosphorus limitation on algal growth rates : evidence from alkaline phosphatase. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38:1421-1427
- Smith SV (1984)** Phosphorus versus nitrogen limitation in the marine environment. *Limnol. Oceanogr.* 29:1149-1160
- Solorzano L (1978)** Soluble fractions of phosphorus compounds and alkaline phosphatase activity in Loch Creran and Loch Etive, Scotland. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 34:227-232
- Solorzano L, Sharp JH (1980)** Determination of total dissolved phosphorus and particulate phosphorus in natural waters. *Limnol. Oceanogr.* 25:754-758
- Sorokin YI (1985)** Phosphorus metabolism in planktonic communities of the eastern tropical Pacific Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 27:87-97
- Stainton MP (1980)** Errors in molybdenum blue methods determining orthophosphate in freshwaters. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37:472-478
- Steeman-Nielsen E (1952)** The use of radioactive carbon (¹⁴C) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer* 18:117-140
- Stephens K (1963)** Determination of low phosphate concentrations in lake and marine waters. *Limnol. Oceanogr.* 8:361-362
- Strickland JDH, Parsons TR (1972)** A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Board Can.* 167
- Suttle CA, Harrison PJ (1988)** Ammonium and phosphate uptake kinetics of size-fractionated plankton from an oligotrophic freshwater lake. *J. Plankton Res.* 10:133-149
- Suttle CA, Stockner JG, Shortreed KS, Harrison PJ (1988)** Time courses of size-fractionated phosphate uptake : are larger cells better competitors for pulses of phosphate than smaller cells ? *Oecologia* 74:571-576
- Suttle CA, Fuhrman JA, Capone DG (1990)** Rapid ammonium cycling and concentration-dependent partitioning of ammonium and phosphate : implications for carbon transfer in planktonic communities. *Limnol. Oceanogr.* 35:424-433
- Sverdrup HU (1953)** On conditions for the vernal blooming of phytoplankton. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer* 18:287-295

- Taft JL, Taylor WR, McCarthy JJ (1975)** Uptake and release of phosphorus by phytoplankton in the Chesapeake Bay Estuary, USA. *Mar. Biol.* 33:21-32
- Taft JL, Loftus ME, Taylor WR (1977)** Phosphate uptake from phosphomonoesters by phytoplankton in the Chesapeake Bay. *Limnol. Oceanogr.* 22:1012-1021
- Talling JF (1957)** Photosynthetic characteristics of some freshwater plankton diatoms in relation to underwater radiation. *New Phytol.* 56:29-50
- Tamminen T (1989)** Dissolved organic phosphorus regeneration by bacterioplankton : 5'-nucleotidase activity and subsequent phosphate uptake in a mesocosm enrichment experiment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 58:89-100
- Taylor WD, Lean DRS (1981)** Radiotracer experiments on phosphorus uptake and release by limnetic microzooplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38:1316-1321
- Taylor WD (1984)** Phosphorus flux through epilimnetic zooplankton from Lake Ontario : relationship with body size and significance to phytoplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41:1702-1712
- Taylor WD, Lean DRS (1991)** Phosphorus pool sizes and fluxes in the epilimnion of a mesotrophic lake. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48:1293-1301
- Thingstad TF, Sakshaug E (1990)** Control of phytoplankton growth in nutrient recycling ecosystems. Theory and terminology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 63:261-272
- Thingstad TF, Skjoldal EF, Bohme RA (1993)** Phosphorus cycling and algal-bacterial competition in Sandsfjord, western Norway. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 99:239-259
- Thingstad TF, Dolan JR, Fuhrman JA (1996a)** Loss rate of an oligotrophic bacterial assemblage as measured by ^3H -thymidine and $^{32}\text{PO}_4$: good agreement and near-balance with production. *Aquat. Microb. Ecol.* 10:29-36
- Thingstad TF, Riemann B, Havskum H, Garde K (1996b)** Incorporation rates and biomass content of C and P in phytoplankton and bacteria in the Bay of Aarhus (Denmark) June 1992. *J. Plankton Res.* 18:97-121
- Thingstad TF, Zweifel UL, Rassoulzadegan F (1998)** P limitation of heterotrophic bacteria and phytoplankton in the northwest Mediterranean. *Limnol. Oceanogr.* 43:88-94
- Thingstad TF, Rassoulzadegan F (1999)** Conceptual models for the biogeochemical role of the photic zone microbial food web, with particular reference to the Mediterranean Sea. *Prog. Oceanogr.* 44:271-286
- Thomson-Bulldis A, Karl D (1998)** Application of a novel method for phosphorus determinations in the oligotrophic North Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.* 43:1565-1577
- Thórdardóttir T (1986)** Timing and duration of spring blooming south and southwest of Iceland. In : Skrelet S (ed.) *The role of freshwater outflow in coastal Marine ecosystems.* Springer-Verlag, Berlin, pp. 345-360
- Toggweiler JR (1999)** An ultimate limiting nutrient. *Nature* 400:511-512
- Townsend DW, Keller MD, Sieracki ME, Ackleson SG (1992)** Spring phytoplankton blooms in the absence of vertical water column stratification. *Nature* 360:59-62
- Tyrrell T, Law CS (1997)** Low nitrate:phosphate ratios in the global ocean. *Nature* 387:793-796
- Tyrrell T, Law CS (1998)** Low nitrate:phosphate ocean ratios corrected... *Nature* 393:318
- Tyrrell T (1999)** The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature* 400:525-531
- Urabe J, Gurung TB, Yoshida T (1999)** Effects of phosphorus supply on phagotrophy by the mixotrophic alga *Uroglena americana* (Chrysophyceae). *Aquat. Microb. Ecol.* 18:77-83
- Utermöhl von H (1931)** Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons. (Mit besondere Berücksichtigung des ultraplanktons). *Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* 5:567-595
- Vadstein O, Olsen Y, Reinertsen H (1993)** The role of planktonic bacteria in phosphorus cycling in lakes-sink and link. *Limnol. Oceanogr.* 38:1539-1544
- Vadstein O, Brekke O, Andersen T, Olsen Y (1995)** Estimation of phosphorus release rates from natural zooplankton communities feeding on planktonic algae and bacteria. *Limnol. Oceanogr.* 40:250-262

- Valderrama JC (1981)** The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Mar. Chem.* 10:109-122
- Varela M (1996)** Phytoplankton ecology in the Bay of Biscay. *Sci. Mar.* 60:45-53
- Vaulot D, LeBot N, Marie D, Fukai E (1996)** Effect of phosphorus on the *Synechococcus* cell cycle in surface Mediterranean waters during summer. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:2527-2533
- Vidal M, Duarte CM, Agusti S (1999)** Dissolved organic nitrogen and phosphorus pools and fluxes in the central Atlantic Ocean. *Limnol. Oceanogr.* 44:106-115
- Vincent D, Hartmann HJ (2001)** Contribution of ciliated microprotozoans and dinoflagellates to the diet of three copepod species in the Bay of Biscay. *Hydrobiologia* 443:193-204
- Vrede K, Vrede T, Isaksson A, Karlsson A (1999)** Effects of nutrients (phosphorus, nitrogen, and carbon) and zooplankton on bacterioplankton and phytoplankton - a seasonal study. *Limnol. Oceanogr.* 44:1616-1624
- Watt WD, Hayes FR (1963)** Tracer study of the phosphorus cycle in sea water. *Limnol. Oceanogr.* 8:276-285
- Welschmeyer NA (1994)** Fluorometric analysis of chlorophyll *a* in the presence of chlorophyll *b* and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.* 39:1985-1992
- Wright RT, Hobbie JE (1966)** Use of glucose and acetate by bacteria and algae in aquatic ecosystems. *Ecology* 47:447-464
- Wright SW, Jeffrey SW, Mantoura RFC (1997)** Evaluation of methods and solvents for pigment extraction. In : Jeffrey SW, Mantoura RFC, Wright SW (eds.) *Phytoplankton pigments in oceanography : guidelines to modern methods*. UNESCO Publishing, Paris, pp. 261-282
- Wu JF, Sunda W, Boyle EA, Karl DM (2000)** Phosphate depletion in the western North Atlantic Ocean. *Science* 289:759-762
- Wynne D, Gophen M (1981)** Phosphatase activity in freshwater zooplankton. *Oikos* 37:369-376
- Wynne D, Kaplan B, Berman T (1991)** Phosphatase activities in Lake Kinneret phytoplankton. In : Chrost RJ (ed.) *Microbial enzymes in aquatic environments*. Springer-Verlag, New York, pp. 220-226
- Yentsch CS, Menzel DW (1963)** A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-Sea Res.* 10:221-231
- Yin K, Harrison PJ, Goldblatt RH, Beamish RJ (1996)** Spring bloom in the central Strait of Georgia : interactions of river discharge, winds and grazing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 138:255-263
- Yin K, Qian PY, Chen JC, Hsieh DPH, Harrison PJ (2000)** Dynamics of nutrients and phytoplankton biomass in the Pearl River estuary and adjacent waters of Hong Kong during summer : preliminary evidence for phosphorus and silicon limitation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 194:295-305
- Yiyong Z, Xinyu Z (1997)** Seasonal variation in kinetic parameters of alkaline phosphatase activity in a shallow chinese freshwater lake (Donghu Lake). *Water Res.* 31:1232-1235
- Zohary T, Robarts RD (1998)** Experimental study of microbial P limitation in the eastern Mediterranean. *Limnol. Oceanogr.* 43:387-395

Annexes

Annexe I

Labry C, Herbland A, Delmas D, Laborde P, Lazure P, Froidefond JM, Jegou AM, Sautour B (2001) Initiation of winter phytoplankton blooms within the Gironde plume waters in the Bay of Biscay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **212**:117-130

Annexe II

Labry C, Herbland A, Delmas D (sous presse) The role of phosphorus on planktonic production of the Gironde plume waters in the bay of Biscay. J. Plankton Res.

Annexe III

Labry C, Delmas D, Herbland A (soumis) Phytoplankton and bacterial alkaline phosphatase activities in relation to phosphate and DOP availability within the Gironde plume waters (bay of Biscay). *Microb. Ecol.*

Annexe IV

Labry C, Herbland A, Delmas D, Laborde P, Lazure P, Froidefond JM, Jegou AM, Sautour B (2001) Winter phytoplankton blooms within the Gironde plume waters in the bay of Biscay.

Poster présenté à : Océanographie du Golfe de Gascogne. VIIème Colloq. Int., Biarritz, 4-6 avril 2000. Elbée J (d'), Prouzet P (coord.). Ed. Ifremer, Actes Colloq. 31:137-139

Et à :ASLO meeting 2000. SS37: Spatial and temporal scales controlling plankton dynamics. Copenhague, 5-9 juin 2000

Annexe V

Labry C, Herbland A, Delmas D, Laborde P (2001) Phosphorus limitation of winter/spring phytoplankton blooms within the Gironde plume in the bay of Biscay. In : Océanographie du Golfe de Gascogne. VIIème Colloq. Int., Biarritz, 4-6 avril 2000. Elbée J (d'), Prouzet P (coord.). Ed. Ifremer, Actes Colloq. 31:119-125

Annexe VI

Labry C, Delmas D, Herbland A (2000) Dissolved inorganic and organic phosphorus cycling within the Gironde plume in the Bay of Biscay : competition between phytoplankton and bacterioplankton. Communication orale à : XXV General Assembly of the European Geophysical Society, Oceans and Atmosphere, session OA13: The dynamics of DOM in marine systems. Nice, 25-29 avril 2000

DISSOLVED INORGANIC AND ORGANIC PHOSPHORUS CYCLING WITHIN THE GIRONDE PLUME IN THE BAY OF BISCAY: COMPETITION BETWEEN PHYTOPLANKTON AND BACTERIOPLANKTON.

Abstract

Previous studies (1995) have shown that spring phytoplankton blooms within the Gironde plume waters in the Bay of Biscay were severely phosphorus limited. The consequence for the planktonic food web was the dominance of $< 3 \mu\text{m}$ phytoplanktonic cells which is unexpected for "classical" spring blooms in temperate waters.

In order to test if phytoplankton blooms should occur earlier in the year and should already exhaust phosphate in the mixed layer, cruises were carried out in 1998 and 1999 from early winter to end of spring. Results confirm the occurrence of winter phytoplankton blooms and highlight a particular pattern for phosphorus.

Before and during the winter blooms, high phosphate (PO_4) concentrations are measured (0.1 to 0.4 μM). Long turn over time of phosphate were recorded (10 to 50 days) and the uptake is mainly realized by phytoplankton (60 to 70 % for the size class above 1 μm). The maximum alkaline phosphatase activity (APA) is weak (V_{max} : 2 to 8 $\text{nM}\cdot\text{h}^{-1}$) and corresponds to long turn over time of phosphomonoesters (125 to 190 days). APA is also mainly associated with phytoplankton (50 - 90 %).

After these winter blooms, phosphate is exhausted in the mixed layer of the Gironde plume. Turn over time of phosphate becomes very weak (1 to 2 hours) during all spring and bacteria dominate its uptake (70 to 90 % for the size class 0.2 - 1 μm). APA has strongly increased up to 150 - 300 $\text{nM}\cdot\text{h}^{-1}$ and the turn over time of phosphomonoesters reaches only 10 h. Both phytoplanktonic and bacterial fractions of APA have increased but phytoplankton contribution is still dominant (70%).

The increase of APA between these two periods points out the importance of the dissolved organic phosphorus (DOP) when phosphate is limiting for microbial growth. The specific activity of the alkaline phosphatase (per unit biomass) has also dramatically increased both for phytoplankton and bacteria, suggesting a similar capacity of adaptation to a strong phosphate limitation.

Abstract

This study was supported by the Atlantic working site of the « Programme National d'Océanographie Côtière » (PNOC, PNEC since 1999). The objectives were (1) to check the existence and to understand the mechanisms of winter phytoplankton blooms in the bay of Biscay influenced by the Gironde waters (2) to determine the limiting nutrient of the primary production associated to these blooms and to follow the seasonal evolution of the limiting nutrient, (3) to understand the consequences of this early limitation on the structuration of algal populations in spring. Since phosphorus was supposed to be the major limiting nutrient of algal growth in the Gironde plume, the different forms of the phosphorus cycle as well as the bacterial compartment, central in this cycle, were also studied in term of stocks and fluxes.

The sampling strategy consisted in three cruises in 1998, BIOMET 2 (January), BIOMET 3 (beginning of March), PEGASE (June) and six cruises in 1999, PLAGIA 1 to 6 (late February, late April, late May, late June, the middle of July and the beginning of October).

Winter algal blooms, essentially diatoms, were actually observed both in the typical waters of the plume ($S < 34.5$) and at the limit of the plume and adjacent atlantic oceanic waters ($S > 34.5$) in the successive years 1998 and 1999. These blooms were initiated by the occurrence of short anticyclonic windows in winter, acting on physical processes which dominate the evolution and characteristics of the Gironde plume (runoff, wind direction and speed) and, ultimately, on the evolution of the depth of the mixed layer (haline stratification) and available light (decrease of turbidity).

The algal growth was actually phosphorus limited in the typical waters of the plume at the end of the winter bloom, in spring and became nitrogen and phosphorus limited in summer until the first autumn gales restored the nutritive balance. More oceanic waters ($S > 34.5$) were probably N+P limited from the end of the winter-the beginning of spring to autumn. Phosphorus limitation of winter blooms, associated with gironde unbalanced nutritive supplies (high NO_3/PO_4 ratios) favoured the development of small cells at the beginning of spring and the later presence of spring blooms (June 1998, late May 1999) composed of pico and nanophytoplankton (nanoflagellates), instead of typical diatom spring blooms for temperate waters. This size reduction of algal communities is strengthened by the competition between phytoplankton and bacteria for the phosphate uptake, bacteria being more competitiveness at low concentrations and being phosphorus limited sometimes in spring. The decreasing size of algal cells probably acted on the structuration of the whole food web.

The study of the different forms of phosphorus displayed the importance of the Dissolved Organic Phosphorus (DOP) pool. The potential biological lability and the capacity of algae and bacteria to use the DOP in spring when phosphate are undetectable was shown by the very high specific activities of alkaline phosphatases and the very rapid cycling of phosphate monoesters. According to the few estimations of actual phosphatasic activity and phosphate assimilation fluxes, the hydrolysis of DOP associated with the coupled assimilation of liberated phosphate would represent 91 to 99 % of the phosphorus fluxes into algal and bacterial cells when phosphate were exhausted. In such conditions DOP could satisfy most of microorganisms phosphorus needs.

Key words : Bay of Biscay, Gironde, phytoplankton, bacteria, phosphate, dissolved organic phosphorus, phosphatases.

Résumé

Cette thèse s'inscrit dans le cadre du Chantier Atlantique du Programme National d'Océanographie Côtière (PNOC, PNEC depuis 1999). Les objectifs de ce travail étaient (1) de vérifier l'existence et comprendre le déterminisme de blooms phytoplanctoniques hivernaux dans les eaux du Golfe de Gascogne influencées par la Gironde, (2) de préciser le facteur limitant de la production primaire associée à ces blooms et de suivre l'évolution saisonnière de ce facteur et (3) de comprendre les conséquences de cette limitation précoce sur la structuration des populations algales au printemps. Le phosphore étant supposé être le principal élément limitant de la croissance algale dans le panache de la Gironde, les différentes composantes du cycle du phosphore ainsi que le compartiment bactérien, central dans ce cycle, ont été étudiés en terme de stock et de flux.

La stratégie d'échantillonnage a consisté en trois campagnes en 1998, BIOMET 2 (janvier), BIOMET 3 (début mars), PEGASE (juin) et six campagnes en 1999, PLAGIA 1 à 6 (fin février, fin avril, fin mai, fin juin, mi-juillet et début octobre).

Des efflorescences algales hivernales, constituées essentiellement de diatomées, ont effectivement été observées de façon récurrente dans les eaux typiques du panache ($S < 34,5$) et à la limite du panache et des eaux océaniques atlantiques adjacentes ($S > 34,5$) au cours des deux années successives 1998 et 1999. Ces blooms ont été engendrés par l'apparition de courtes fenêtres anticycloniques en période hivernale, ces fenêtres interférant sur les processus physiques qui prévalent sur l'évolution et les caractéristiques du panache de la Gironde (régime des débits, orientation et force du vent) et, de façon ultime, sur l'évolution de la profondeur de la couche de mélange (halostratification) et la disponibilité en lumière (diminution de la turbidité).

La croissance algale était limitée par le phosphore dans les eaux typiques du panache à la fin du bloom hivernal, au printemps et devint limitée en azote et en phosphore en période estivale et ceci jusqu'à ce que les premières tempêtes automnales rétablissent l'équilibre nutritif des eaux. Les eaux à caractère plus océanique ($S > 34,5$) étaient plus probablement limitées par N+P dès la fin de l'hiver-début du printemps et ce jusqu'à l'automne. La limitation des blooms hivernaux par le phosphore, associée à des apports nutritifs girondins déséquilibrés en phosphate (rapports NO_3/PO_4 élevés) a favorisé le développement de cellules de petite taille au début du printemps et la présence ultérieure de blooms printaniers (juin 1998, fin mai 1999) composés de pico- et de nanophytoplancton (nanoflagellés), blooms « atypiques » pour des eaux tempérées à cette saison. Cette structuration des communautés algales est renforcée par la compétition entre le phytoplancton et les bactéries pour l'acquisition du phosphate, les bactéries étant plus compétitives aux faibles teneurs en phosphate et pouvant être elles-mêmes limitées par le phosphore à certains moments du printemps. La diminution de taille des cellules algales a probablement une incidence sur la structure de taille de l'ensemble du réseau trophique.

L'étude des différentes composantes du phosphore montre l'importance du pool de Phosphore Organique Dissous (POD), sa labilité biologique potentielle et la capacité des communautés algales et bactériennes à utiliser ce pool au printemps quand les phosphates sont indétectables (activités spécifiques des phosphatases alcalines très élevées, recyclage très rapide des monoesters de phosphate). Au vu des quelques estimations de l'activité phosphatasique réelle et des flux d'assimilation de phosphate, l'hydrolyse du POD associée à l'assimilation couplée du phosphate libéré représenterait 91 à 99 % des flux de phosphore vers les cellules algales et bactériennes, quand les phosphates du milieu sont déficients. Dans de telles conditions, le POD pourrait satisfaire l'essentiel des besoins des microorganismes en phosphore.

Mots clés : Golfe de Gascogne, Gironde, phytoplancton, bactéries, phosphates, phosphore organique dissous, phosphatases.