

Record Number: 1320
Author, Monographic: Northon, R./Campbell, P. G. C.
Author Role:
Title, Monographic: Évaluation de la productivité hétérotrophe secondaire bactérienne des eaux du territoire de la Baie-James par la méthode d'assimilation simultanée de D-3H-glucose et de 35S-sulfate à l'obscurité

Translated Title:
Reprint Status:
Edition:
Author, Subsidiary:
Author Role:
Place of Publication: Québec
Publisher Name: INRS-Eau
Date of Publication: 1978
Original Publication Date:
Volume Identification:
Extent of Work: vii, 74
Packaging Method: pages incluant 3 annexes
Series Editor:
Series Editor Role:
Series Title: INRS-Eau, Rapport de recherche
Series Volume ID: 131
Location/URL:
ISBN: 2-89146-128-2
Notes: Rapport annuel 1978-1979
Abstract: Rapport rédigé pour la Société d'énergie de la Baie-James
10.00\$
Call Number: R000131
Keywords: rapport/ ok/ dl

Evaluation de la productivité hétérotrophe secondaire
bactérienne des eaux du territoire de la Baie James par
la méthode d'assimilation simultanée de D-³H-glucose et
de ³⁵S-sulfate à l'obscurité.

par

RICHARD NORTHON, étudiant en maîtrise à l'INRS-Eau
sous la direction scientifique de P.G.C. Campbell

Rapport final

Rapport de recherche

Institut National de la Recherche Scientifique

INRS-Eau

1978

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier ceux qui, de près ou de loin, m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail, tel que: M. Charles-Alain Bachand, limnologue à l'emploi de la SEBJ, M. Jean-Louis Fréchette, technicien, ainsi que toute l'équipe du laboratoire du lac Hélène. L'aide de M. P.G.C. Campbell sur le plan professionnel et personnel m'a été essentielle pour cette étude.

RESUME

La méthode ^3H -glucose/ ^{35}S -sulfate, qui avait été mise au point pour les eaux courantes fortement minéralisées, s'est avérée également applicable pour les eaux faiblement minéralisées du Bouclier canadien.

Du mois de juin à septembre 1978, les valeurs de productivité hétérotrophe bactérienne obtenues par la méthode d'assimilation simultanée de D- ^3H -glucose et de ^{35}S -sulfate à l'obscurité varient de 0.3 à 1.7 $\mu\text{g C}/\ell\text{-h}$ pour les stations du lac Detcheverry (SB 400) lac Béréziuk (G2 403) et La Grande Rivière (G1 300). Pour les eaux plus productives, tel le réservoir Desaulniers, les valeurs sont nettement plus élevées, s'échelonnant de 2.0 à 9.3 $\mu\text{g C}/\ell\text{-h}$.

La comparaison de ces valeurs à celles de productivité primaire, faites en concomitance avec nos analyses, montre l'importance des bactéries dans la production de matière organique particulaire dans les systèmes aquatiques étudiés.

TABLE DES MATIERES

	<u>Page</u>
REMERCIEMENTS	<i>i</i>
RESUME	<i>ii</i>
TABLE DES MATIERES	<i>iii</i>
LISTE DES TABLEAUX	<i>iv</i>
LISTE DES FIGURES	<i>vi</i>
LISTE DES ANNEXES	<i>vii</i>
1. INTRODUCTION	1
2. ECHANTILLONNAGE - METHODOLOGIE	2
3. METHODE	3
4. RESULTAT ET DISCUSSION	4
4.1 Fraction de sulfate assimilé par heure	5
4.2 Fraction de l'activité microbologique hétérotrophe dans l'échantillon filtré	5
4.3 Chlorophylle- α et phéopigments	7
4.4 Production hétérotrophe bactérienne exprimée en termes de soufre particulaire	8
4.5 Production hétérotrophe bactérienne exprimée en termes de carbone particulaire	9
4.6 Temps de "turnover"	12
4.7 Précision de la méthode	14
5. CONCLUSION	16
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	18

LISTE DES TABLEAUX

	<u>PAGE</u>
1.1 Valeur de la fraction de sulfate assimilé par heure aux quatre stations	22
1.2 Valeurs de la fraction de l'activité microbiologique hétérotrophe dans l'échantillon filtré (F/NF) aux quatre stations ...	23
1.3 Valeurs de chlorophylle- <i>a</i> et de phéopigments dans les échantillons filtrés et non-filtrés aux quatre stations	24
1.4 Valeurs de soufre assimilé par heure en $\text{ng S l}^{-1}\text{h}^{-1}$ aux quatre stations	25
1.5 Valeurs de la production bactérienne exprimées en unités de carbone $\mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$ aux quatre stations	26
1.6 Valeurs de potentiel autotrophe, productivité primaire <i>in situ</i> (bouteille à scintillation et fiole de 125 ml) et productivité bactérienne exprimées en unité de carbone $\mu\text{g C/l-h}$ aux quatre stations	27
1.7 Valeurs de temps de "turnover" en heures aux quatre stations ..	28
1.8 Ecart-type <i>s</i> (en %) de la moyenne associé à chaque terme de l'équation générale du calcul de la production	29
2.1 Variation du cpm net ^3H et ^{35}S en fonction du mode de fixation	60

LISTE DES TABLEAUX

(suite)

	<u>PAGE</u>
2.2 Variation du cpm net ³ H et ³⁵ S en fonction du temps, après la fixation au Lugol-AcOH	61
2.3 Variation du cpm net ³ H et ³⁵ S en fonction de la filtration avec des membranes 0.2 μm et 0.45 μm Sartorius	62
2.4 Variation du cpm net ³ H en fonction du temps où le filtre demeure sous vide	63
3.1 Vérification de l'efficacité de la séparation entre algues et bactéries par filtration sur membranes Nucléopore de 3 ou 8 μm	64
3.2 Variation du cpm ³ H et ³⁵ S en fonction de la séparation algues-bactéries avant incubation et après incubation	65
3.3 Variation du cpm net ³ H en fonction de l'incubation à la lumière ou à l'obscurité	66
3.4 Variation du cpm ³ H et ³⁵ S en fonction du temps d'incubation à l'obscurité	67

LISTE DES FIGURES

	<u>Page</u>
1.1 Bactéries dans la chaîne alimentaire aquatique.....	30
1.2 Schéma général de la méthode.....	31
1.3 Variation de la production hétérotrophe bactérienne de soufre et du carbone organique dissous en fonction du temps aux quatre stations.....	32
1.4 Variation de la production hétérotrophe bactérienne en termes de soufre, de la concentration en chlorophylle- <i>a</i> et de la concentration en phéopigments en fonction du temps aux quatre stations.....	33
1.5 Variation de la production hétérotrophe bactérienne en termes de carbone particulaire et du carbone organique dissous en fonction du temps aux stations G1 300, SB 400 et G2 403.....	34
1.6 Variation de la production hétérotrophe bactérienne en terme de carbone particulaire, de la concentration en chlorophylle <i>a</i> et de la concentration en phéopigments en fonction du temps aux sta- tions G1 300, SB 400 et G2 403.....	35
2.1 Variation du cpm ³ H et ³⁵ S en fonction du temps pour échantillon fixé au Lugol-AcOH.	68
3.1 Variation du net cpm ³ H et ³⁵ S en fonction du temps d'incubation à la station SB 400, lac Detcheverry.	69
3.2 Variation du net cpm ³ H et ³⁵ S en fonction du temps d'incubation à la station G2 129, réservoir Desaulniers	70

LISTE DES ANNEXES

		<u>Page</u>
Annexe 1	Protocole expérimental détaillé de la méthode de la mesure simultanée de l'assimilation dans l'obscurité du ^{35}S -sulfate et du D- ^3H -glucose.....	37
Annexe 2-A	Effets de différents modes de fixation.....	42
Annexe 2-B	Variation des cpm ^3H et ^{35}S après fixation au Lugol-AcOH en fonction du temps.....	44
Annexe 2-C	Comparaisons entre membranes de porosités différentes (0.2 vs 0.45 μm ; Sartorius).	46
Annexe 2-D	Importance de ne pas laisser sécher les membranes lors des filtrations.....	47
Annexe 3-A	Vérifier l'efficacité de la séparation entre les algues et les bactéries par filtration sur des membranes Nuclepore de 3, 5 ou 8 μm	49
Annexe 3-B	Vérifier si la séparation entre bactéries (<5 μm) et le phyto-plancton (>5 μm) doit se faire <u>avant</u> ou <u>après</u> l'incubation.	52
Annexe 3-C	Vérifier l'effet de la lumière sur l'assimilation du glucose..	55
Annexe 3-D	Vérifier la linéarité de l'assimilation du glucose et du sulfate.	57

1. INTRODUCTION

Le rôle important des bactéries dans la chaîne alimentaire est évident (fig. 1.1). Les produits extra-cellulaires dissous de la photosynthèse aussi bien que les substances allochtones provenant du bassin versant d'un lac ou d'une rivière sont transformés en partie en matériel particulaire par l'activité métabolique des bactéries. Ce matériel particulaire peut ensuite être introduit dans la chaîne alimentaire comme nourriture pour les organismes brouteurs.

La Société d'énergie de la Baie James, qui a la responsabilité de surveiller les changements de conditions de l'environnement lors de la mise en eau et de l'opération de ses réservoirs, a décidé d'étudier la production secondaire bactérienne (production hétérotrophe) en concomitance avec la production autotrophe.

Ainsi, une rencontre entre la SEBJ et l'INRS-Eau a permis à un stagiaire de l'INRS-Eau d'expérimenter, sur le territoire de la baie James, une nouvelle méthode d'évaluation de la productivité secondaire bactérienne des eaux naturelles par la mesure simultanée de l'assimilation dans l'obscurité du ^{35}S -sulfate et du D- ^3H -glucose, méthode mise au point par M. P.G.C. Campbell, ancien professeur du centre INRS-Eau, maintenant directeur de celui-ci.

Le stage s'est déroulé ainsi:

3 semaines au laboratoire de l'INRS-Eau;

8 semaines sur le territoire de la baie James, au laboratoire du lac Hélène;

3 semaines pour la rédaction et l'interprétation des résultats.

2. ECHANTILLONNAGE - METHODOLOGIE

Les échantillons analysés provenaient de 4 stations:

2 en lacs, SB 400, lac Detcheverry - station témoin

G2 403, lac Béréziuk - milieu devant être perturbé

1 en rivière, LG 1, La Grande Rivière

1 en réservoir (ancienne rivière) - réservoir Desaulniers G2 129 - milieu perturbé.

La cueillette d'échantillons était faite par les membres de l'équipe du Réseau de Surveillance Ecologique, qui utilisaient des hydrocapteurs de type Kemmerer et des intégrateurs maisons appelés "brinbale".

Normalement, les échantillons étaient rapportés au laboratoire moins de 3 heures après leur cueillette. Cependant, à cause de problèmes logistiques, certains échantillons arrivaient au laboratoire avec un retard de cinq heures.

Les analyses de SO_4 , carbone organique total (TOC), carbone inorganique total (TIC) et chlorophylle- a étaient accomplies par les techniciens du laboratoire au lac Hélène.

L'échantillonnage devait être effectué toutes les deux semaines, mais des problèmes logistiques ont parfois empêché l'échantillonnage prévu pour une date donnée (ex: avaries aux aéronefs, mauvais temps, etc.). Entre les semaines d'échantillonnage régulier, on effectuait les expériences complémentaires présentées aux annexes 2 et 3.

3. METHODE

L'évaluation de l'importance quantitative de la production secondaire bactérienne pose beaucoup de problèmes, surtout à cause de la grande diversité des substances organiques dissoutes; par conséquent, l'emploi de substrats monomères marqués, tels qu'employés par Parsons et Strickland (20) et par Wright et Hobbie (29), ne donne qu'une mesure relative de l'activité microbiologique. Il faut donc chercher un élément autre que le carbone organique pour mesurer le métabolisme de la communauté microbienne. Monheimer (14, 16) et Jassby (8) ont proposé comme indice l'assimilation de sulfate à la noirceur. Le rapport de masse C:S dans la matière organique dissoute, soit 500:1 selon Stuiver (24), étant beaucoup plus grand que celui trouvé dans la biomasse bactérienne, soit 100:1 selon Jordan (9), les micro-organismes doivent "satisfaire" leur besoin en soufre par incorporation directe (réduction) de sulfate inorganique. Ainsi, l'assimilation de $^{35}\text{SO}_4$ peut servir pour évaluer la production hétérotrophe d'une eau.

Cependant, plusieurs auteurs ont récemment démontré que l'assimilation de SO_4 dans l'obscurité peut être réalisée non seulement par les bactéries hétérotrophes, mais également par le phytoplancton (Campbell et Baker (6), Miyachi (13), Monheimer (18), Vallée et Jeanjean(25) et Wedding et Black (27)), ce fait compromettant la validité de la méthode. Une solution possible consiste à séparer, par filtration, le phytoplancton des bactéries, technique souvent utilisée (Allen (1), Burnison (4), Berman (3), Salonen (21)) et basée sur les dimensions relativement plus grandes des cellules algales. Un autre problème, rencontré par Talbot, en 1976, lors des essais préliminaires de la méthode, étaient les valeurs élevées des témoins (11). L'élimination du périmètre du filtre permet de résoudre ce problème.

La méthode, telle qu'employée, est décrite sommairement à la figure 1.2. Au début, nous séparons par filtration les algues des bactéries. Ensuite, l'échantillon brut de même que l'échantillon filtré sont incubés à l'obscurité avec des quantités traces de glucose marqué au tritium, tandis que seul le filtrat est incubé avec le sulfate marqué. Le D-³H-glucose sert à corriger la valeur de l'assimilation de SO₄ dans le filtrat en tenant compte des bactéries n'ayant pas traversé le filtre (c.à.d. celles associées aux particules en suspension, au détritus, etc, et donc retenues sur la membrane); en multipliant la valeur de l'assimilation de SO₄ par le rapport {assimilation du glucose dans l'échantillon entier/assimilation du glucose dans l'échantillon filtré}, nous obtenons une mesure de l'assimilation de sulfate dans l'échantillon entier.

Après incubation, il y a fixation des échantillons actifs, filtration, lavage du résidu, puis découpage du filtre et enfin dissolution du centre du filtre dans le cocktail à scintillation. Après un délai d'au moins 16 heures, il y a addition d'une solution de Na₂SO₄ (15 mg/l) pour produire une émulsion; après cette étape, les bouteilles à scintillation sont acheminées à Québec pour comptage.

Ces expériences sont réalisées en triple pour les fioles actives et en double pour les témoins (assimilation non-biologique). Les calculs s'exécutent grâce à une courbe de calibration appelée "courbe de correction pour le quenching".

4. RESULTATS ET DISCUSSION

Afin de mieux comprendre les résultats obtenus en termes de production secondaire bactérienne sous forme de carbone particulaire, nous introduisons quelques paramètres qui nous renseignent sur la méthode, la précision et la validité. Ainsi, la fraction de l'activité microbologique hétérotrophe dans l'échantillon filtré, la chlorophylle-a, la fraction

de sulfate assimilée par heure, l'assimilation hétérotrophe en termes de soufre et de carbone particulaire, la précision de la méthode et enfin le temps de "turnover" seront étudiés afin de décrire un peu mieux le phénomène. La méthode est décrite en détail dans l'annexe 1 et enfin, on trouvera en annexe 2 quelques expériences mettant en lumière des phénomènes intéressants qui aideront l'utilisateur futur de la méthode.

4.1 Fraction de sulfate assimilé par heure

En divisant l'assimilation de $^{35}\text{SO}_4$ par la radioactivité ajoutée et le temps d'incubation, nous obtenons la fraction de sulfate que les micro-organismes ont assimilé par heure. Cette fraction s'avère très faible, 1×10^{-6} pour les eaux peu productives (ex: lac Detcheverry) et 5×10^{-5} pour les eaux plus productives (ex: réservoir Desaulniers) (tableau 1.1). La concentration de sulfate variant très peu au cours de l'incubation, le soufre ne devient pas le facteur limitant et par conséquent n'influence pas la vitesse d'assimilation du carbone.

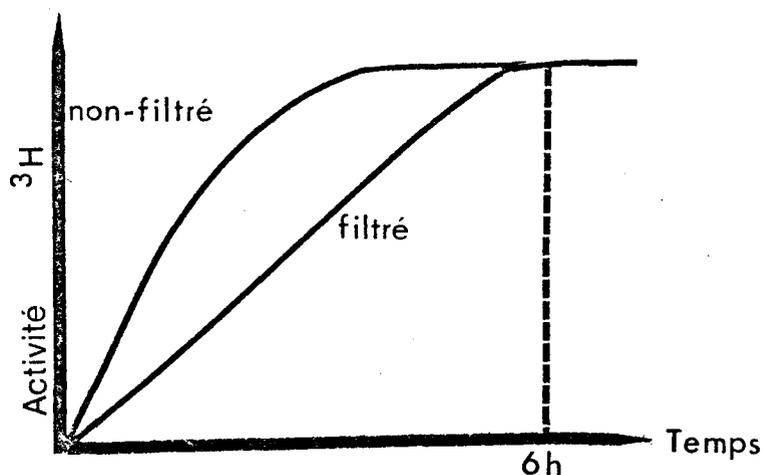
4.2 Fraction de l'activité microbiologique hétérotrophe dans l'échantillon filtré

Pour éliminer le phytoplancton capable d'assimilation de sulfate à l'obscurité, nous procédons à un fractionnement physique par filtration sur membranes Nuclepore de 3, 5 ou 8 μm . Dès lors, une certaine partie des micro-organismes bactériens sont retenus sur la membrane (ex: "attachés" sur les détritiques). Afin d'évaluer cette fraction, on ajoute le glucose marqué au tritium (D-2- ^3H -glucose) à l'échantillon filtré et non filtré, et on fait le rapport du filtré sur le non filtré (F/NF).

Les valeurs trouvées aux quatre stations sont représentées au tableau 1.2. On notera la variation importante du rapport F/NF dans le temps à chaque station, et dans l'espace pour les 4 stations. Cette variation reflète des changements au niveau de la composition et la quantité des détritux dans la colonne d'eau. De l'examen du tableau, il ressort que l'on ne peut établir une fraction constante pour un plan d'eau donné. Il s'ensuit que la simple mesure de l'assimilation de sulfate dans l'échantillon filtré, suivie d'une correction arbitraire constante ne peut, malheureusement, être justifiée. L'expérience pour vérifier la linéarité de l'assimilation de ^3H -glucose et du $^{35}\text{SO}_4$ en fonction du temps dans l'eau du réservoir Desaulniers, présentée dans l'annexe 3-D, montre qu'il y a assimilation complète du ^3H -glucose dans les six heures d'incubation et ce, dans l'échantillon filtré. On peut s'attendre à ce que les bactéries dans l'échantillon non filtré (entier) en feront de même, étant encore plus nombreuses. Ainsi, nous trouverons un rapport (F/NF) toujours autour de l'unité:

Assimilation de ^3H -glucose dans l'échantillon filtré

Assimilation de ^3H -glucose dans l'échantillon non filtré (entier)



Le vrai rapport est inconnu, alors que le rapport apparent est égal à l'unité.

Bien que réalisée une seule fois, cette expérience suggère que les organismes hétérotrophes dans un milieu enrichi (ex: le réservoir Desaulniers) peuvent épuiser la petite quantité de glucose ajoutée comme traceur, ce qui a pour effet de fausser la détermination du rapport F/NF. En effet, dans le tableau 1.2, on note que les valeurs F/NF sont plus grandes pour le réservoir Desaulniers que pour les autres stations, pouvant même parfois dépasser l'unité. De toute évidence, ces valeurs ne reflètent pas le vrai rapport {métabolisme hétérotrophe dans le filtrat:métabolisme hétérotrophe microbien dans l'échantillon entier}. Des solutions à ce problème sont étudiées à l'annexe 3-D.

4.3 Chlorophylle-a et phéopigments

Afin d'être en mesure d'estimer l'efficacité de la séparation entre le phytoplancton et les bactéries grâce à la filtration sur membrane Nuclepore de porosités nominales de 3, 5 ou 8 μm , on a eu recours à la détermination de la concentration en chlorophylle-a dans les échantillons filtrés et non filtrés. En effet, la plupart des organismes photo-autotrophes renferment des pigments chlorophylliens nécessaires à la photosynthèse. Ainsi, en déterminant la concentration en chlorophylle-a sur le filtrat et sur l'échantillon entier, on est en mesure de juger de l'importance des organismes autotrophes ayant traversé la membrane.

Comme le tableau 1.3 l'illustre, un pourcentage appréciable de ces organismes traverse la membrane: 50% pour la membrane de 8 μm , 40% pour celle de 5 μm et \sim 28% pour la membrane de 3 μm . Ce fort

pourcentage pourrait compromettre la validité de la méthode, car il a déjà été confirmé que les organismes autotrophes (algues) peuvent assimiler le sulfate à l'obscurité (annexe 3-B). On peut se demander si ces organismes sont encore actifs: l'expérience présentée en annexe 3-A nous répond dans la négative.

4.4 Production en termes de soufre

La production secondaire bactérienne en termes de soufre est représentée au tableau 1.4. Nous remarquons les faibles valeurs ainsi que le peu de variations pour les eaux du lac Detcheverry ($1.2-2.2 \text{ ng S l}^{-1}\text{h}^{-1}$). En contraste, des valeurs beaucoup plus élevées et plus variables pour le réservoir Desaulniers ($15-93 \text{ ng S l}^{-1}\text{h}^{-1}$). Les valeurs de la La Grande Rivière ($4.9-8.0 \text{ ng S l}^{-1}\text{h}^{-1}$) sont à peu près semblables à celles obtenues par Campbell et Baker (6) sur des échantillons d'eau calcaire provenant d'un ruisseau en Angleterre ($4.9-10.6 \text{ ng S l}^{-1}\text{h}^{-1}$).

L'évolution de la production hétérotrophe en termes de soufre et celle du carbone organique dissous en fonction du temps sont représentées sur la figure 1.3. Les courbes ont la même allure à la station G1 300 et SB 400, c'est-à-dire que lorsque le TOC augmente, l'assimilation augmente aussi. Ce phénomène n'est point remarqué sur G2 129 et G2 403. Il est intéressant de remarquer, à la station G2 403, qu'il y a baisse de production bactérienne pour une concentration constante de carbone organique dissous. Une réduction est aussi ressentie à G2 129.

La variation de la production bactérienne en termes de soufre en relation avec la chlorophylle-*a* et les phéopigments est décrite à la figure 1.4. Pour la station G2 129 du réservoir Desaulniers, il y a un maximum de concentration pour les phéopigments au début juillet avec un minimum

de concentration en chlorophylle-a. On observe ensuite une augmentation de la valeur de chlorophylle-a avec, en opposé, diminution de phéopigments. Comme la chlorophylle-a décrit la biomasse algale vivante et les phéopigments décrivent la biomasse algale morte, on réalise qu'un minimum de production se produit en juillet avec une augmentation en août (bloom d'automne).

Par contre, on observe un maximum de production hétérotrophe se situant à la mi-juin. Il y aurait lieu de comparer ce maximum avec le maximum printanier du phytoplancton. On y verrait probablement le cycle biologique "normal", c'est-à-dire maximum d'algues au printemps avec peu de phéopigments, ensuite décroissance des algues avec augmentation de la concentration en phéopigments qui concorde avec un accroissement dans la production hétérotrophe (colonisation des détritus, minéralisation de la matière organique dissoute); on aurait un autre "bloom" d'algues en automne avec réduction de phéopigments. Un autre maximum de production hétérotrophe devrait suivre, dans le temps, le "bloom" d'algues d'automne avec augmentation en phéopigments (algues mortes). La station de LG 1 suit, à peu près, le même schéma que la station G2 129.

Les stations en lac, soit G2 403 et SB 400 voient leur chlorophylle-a et leur production hétérotrophe posséder le même comportement. Ainsi, le comportement des micro-organismes bactériens semble suivre de près celui des algues vivantes. Cependant, il faudrait avoir des données sur une plus grande échelle de temps (ex: une année) afin de tirer des interprétations et des conclusions plus valables.

4.5 Production bactérienne exprimée en unités de carbone

Assumant un rapport de masse C:S de 100 pour les bactéries aquatiques (9) et en utilisant la fraction de l'activité microbologique hétérotrophe

dans l'échantillon filtré, f , nous pouvons estimer le taux de formation de carbone organique particulaire (bactérien) à partir de la production hétérotrophe en termes de soufre, selon la formule:

$$\text{Production (exprimée en C)} = \text{Production (exprimée en S)} \times \frac{1}{f} \times 100$$

Les résultats des vitesses d'assimilation exprimés en unités de carbone peuvent être divisés en deux classes: le réservoir Desaulniers avec des valeurs généralement élevées $2-9 \mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$ et les trois autres stations avec des teneurs habituellement faibles $0.3-2 \mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$ (tableau 1-5).

Pour le réservoir Desaulniers, on se doit de penser que ces résultats soient sous-estimés (voir discussion sur la fraction de l'activité microbiologique hétérotrophe dans l'échantillon filtré et l'annexe 3-D sur la linéarité de l'assimilation). Néanmoins, ces valeurs se distinguent nettement de celles des autres bassins d'eau. La méthode est donc assez sensible pour illustrer les changements au sein des organismes bactériens dans une eau dont les caractéristiques sont modifiées par contact avec une superficie terrestre submergée. Il y a beaucoup moins de variations dans les stations non influencées par des travaux que dans le réservoir Desaulniers.

La littérature nous propose des résultats obtenus par d'autres chercheurs: $0.24-0.53 \mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$ par Campbell et Baker (5) selon la méthode développée dans cette étude-ci, $4.1 \mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$ par Saunders (23) dans l'épilimnion du lac Frains, 1.9 à $18 \mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$ par Overbeck (19).

Nos valeurs recoupent tous ces résultats, mais toute comparaison doit se faire avec circonspection car ces concentrations ont été obtenues soit par différentes méthodes et/ou d'autres calculs.

Les figures 1.5 et 1.6 représentent la variation de production hétérotrophe bactérienne en termes de carbone particulaire en fonction du carbone organique dissous (fig. 1.5) et de la chlorophylle-*a* et des phéopigments (fig. 1.6). Comme les valeurs de production hétérotrophe en terme de carbone particulaire pour la station G2 129 sont sous-estimées, ils n'apparaissent pas dans ces figures.

Les mêmes commentaires que ceux appliqués pour la production en termes de soufre particulaire peuvent être faits ici, notamment en ce qui concerne le peu de valeurs et le petit espace de temps considéré.

Le réseau de Surveillance Ecologique a évalué la productivité primaire selon trois méthodes au carbone-14:

- 1) Potentiel autotrophe en incubateur dans des bouteilles à scintillation;
- 2) Productivité primaire *in situ* simulée dans des bouteilles à scintillation;
- 3) Productivité primaire *in situ* simulée dans des bouteilles de type Jena (125 ml).

Les échantillons incubés dans les bouteilles à scintillation ont été traités directement par acidification (pour dégager le $^{14}\text{CO}_2$) suivie de l'addition d'Aquasol. Ceux incubés dans les bouteilles de type Jena ont été filtrés sur membrane Millipore; les membranes furent ensuite introduites dans des bouteilles à scintillation contenant un liquide scintillant à base de dioxane. Les résultats de ces méthodes ainsi que ceux de la productivité hétérotrophe bactérienne figurent au tableau 1.6.

Ainsi, la productivité bactérienne est toujours égale ou supérieure au potentiel autotrophe et à la productivité primaire *in situ* simulée dans des bouteilles à scintillation; par contre, elle est égale ou inférieure aux valeurs obtenues par la troisième méthode de productivité photosynthétique (fiolle de 125 ml). Les résultats de productivité primaire, étant eux-mêmes plutôt variables, la comparaison absolue autotrophe vs hétérotrophe nous apparaît difficile. Néanmoins, toutes les valeurs montrées au tableau 1.6 étant du même ordre de grandeur, il est clair que l'activité hétérotrophe bactérienne s'inscrit comme un chaînon important dans la production de matière organique particulaire dans les eaux faiblement minéralisées de la Baie James (dans l'espace de temps étudié). L'importance des bactéries est plus évidente si on transforme les valeurs de productivité du tableau 1.6 sur une base journalière ($\mu\text{g C/l-jour}$); ainsi on multiplie les valeurs de productivité hétérotrophe par 24 heures/jour tandis qu'en tenant compte de la photopériode, soit environ 16 heures, on multiplie par 16 heures/jour les valeurs de productivité primaire.

4.6 Temps de turnover

Le temps de turnover est le temps requis pour l'élimination complète d'un substrat naturel par la microflore. La littérature indique qu'il existe une grande variabilité dans les valeurs trouvées pour le glucose (Saunders (23) et Wetzel (28)). Ainsi, on peut retrouver 0.5 heure dans les eaux très productives et jusqu'à plusieurs milliers d'heures dans les océans peu productifs. Nos résultats tels qu'inscrits au tableau 1.7 varient de 33 heures à 502 heures.

Le temps de turnover, $T = \frac{S_n}{V_n}$ dépendra de deux facteurs:

- d'une part, de la concentration naturelle du substrat, S_n ,
- et, d'autre part, de la vitesse d'assimilation du substrat, V_n .

Connaissant déjà la vitesse d'assimilation de la matière organique (voir tableaux 1.4 et 1.5), on peut tirer certaines conclusions sur la concentration de glucose présente dans le milieu. Si par exemple, on examine le lac Detcheverry et la Grande Rivière à la station de LG 1, on s'aperçoit que le temps de turnover du lac Detcheverry est supérieur à la station de la Grande Rivière, LG 1. Mais, autour du 3 août 1978, le temps de turnover du glucose au lac Detcheverry est à peu près égal au temps de turnover à la station de LG 1, alors que la vitesse d'assimilation en termes de soufre au lac Detcheverry est inférieure à celle de la station de LG 1. Si la vitesse de transformation du lac Detcheverry est plus lente que celle de la station de LG 1 et qu'après 178 h cette transformation est complète, il faut que la concentration en glucose du lac Detcheverry à cette date soit plus faible que celle de la station de LG 1. Le même raisonnement s'applique pour LG 1 et le réservoir Desaulniers où, malgré une vitesse d'assimilation beaucoup plus élevée pour le réservoir, nous obtenons à peu près le même temps de turnover. Il faut donc que la concentration en glucose de LG 1 soit plus faible que celle de Desaulniers. Si nous faisons ce raisonnement pour toutes les stations, nous trouverons pour les concentrations que:

$$[\text{glucose}]_{\text{LG 1}} < [\text{glucose}]_{\text{Lac Detcheverry}} < [\text{glucose}]_{\text{Lac Béréziuk}}$$

Le réservoir, à cause de sa grande vitesse d'assimilation et de son temps de turnover faible, ne peut être placé distinctement dans cette échelle de valeurs. Probablement se situe-t-il en première position dû aux grands apports de matière organique provenant de la surface inondée.

L'annexe 3-D montre qu'il peut y avoir surestimation du temps de turnover. En effet, le temps réel pris pour transformer tout le glucose ajouté est d'environ 10 h, tandis que le calcul donnerait ~ 25 h. La raison est probablement due au métabolisme que subit le ^3H -glucose et les pertes extracellulaires de tritium ($^3\text{H}\text{-H}_2\text{O}$; métabolites organiques toujours marqués au tritium). Selon Saunders (22), avec les substrats marqués au ^{14}C , la perte extracellulaire par les bactéries varie de 3 à 15% du substrat radioactif initial, tel que le glucose, un acide aminé ou l'acétate. Mais cette surestimation n'influence en rien les résultats de l'assimilation en terme de carbone car on s'intéresse à la transformation de matière organique dissoute en matière organique particulaire que l'on exprime sous forme de carbone particulaire (bactérien).

4.7 Précision de la méthode

Dû au phénomène lui-même (c'est-à-dire échantillonnage de micro-organismes vivants dispersés dans un milieu), toute méthode biologique entraîne certains écarts (6, 7, 26). On peut les réduire au minimum par un échantillonnage très représentatif, c'est-à-dire très extensif. Par intérêt pratique, nous nous limitons souvent à quelques échantillons avec les écarts associés à ceux-ci. Ainsi, nous avons travaillé avec trois réplicats pour les échantillons actifs et avec deux réplicats pour les échantillons contrôlés et ce pour le ^3H -glucose non filtré, le ^3H -glucose filtré et le $^{35}\text{SO}_4$; chaque réplikat était filtré en double (c'est-à-dire 2×50 ml) pour ainsi donner 6 résultats pour les fioles actives et 4 valeurs pour les fioles de contrôle. Les écarts-type, calculés pour chacun de ces termes, à chaque expérience, sont présentés au tableau 1.8. Comme le calcul de la production implique beaucoup trop de termes de moyennes (tableau 1.8) pour faire un calcul statistique rigoureux,

seul un test sur la moyenne (l'erreur standard) a été entrepris pour les valeurs d'assimilation de sulfate, afin d'évaluer les variations par rapport à la moyenne en termes de production ($\text{ng C l}^{-1}\text{h}^{-1}$).

Cette erreur standard ne représentera l'écart global que lorsque les erreurs associées à la mesure de l'assimilation du ^3H -glucose seront négligeables par rapport à l'erreur standard pour le $^{35}\text{SO}_4$: ex.: LG 1. Par contre, lorsque les termes de ^3H -glucose auront une erreur non négligeable (ex.: >25%), alors les limites de confiance seront plus larges que celles calculées en ne tenant compte que du sulfate.

Il est normal de trouver de plus grands écarts relatifs sur les plans d'eau très peu productifs, tel le lac Detcheverry, que sur d'autres endroits plus productifs tel le réservoir Desaulniers.

Pour abaisser les erreurs en eau peu productive, il faudra incubé un temps plus long pour abaisser les écarts relatifs sur le SO_4 pour augmenter la différence entre $^{35}\text{SO}_4$ actif et $^{35}\text{SO}_4$ contrôle. Aussi, il faudra une bonne homogénéisation des bouteilles que l'on reçoit au laboratoire par exemple à l'aide d'un agitateur magnétique pendant au moins 1 minute. Il importe d'adopter une procédure d'homogénéisation standard.

Est-il nécessaire de préciser qu'un travail précis et méticuleux permettra de réduire les écarts...

5. CONCLUSION

La méthode d'estimation de la productivité bactérienne d'une eau par assimilation simultanée de ^3H -glucose et de $^{35}\text{S-SO}_4$ est applicable pour les eaux peu productives tel le lac Detcheverry. Les valeurs de productivité s'échelonnent de 0.3 à 1.7 $\mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$. Cependant, l'écart-type est quelquefois élevé. On pourrait régler ce problème par une meilleure agitation (ex.: agitation magnétique) des bouteilles à échantillonner ainsi qu'une incubation plus longue que 5 hres (~8 hres) pour élever les quantités de sulfate assimilées. Pour les eaux plus productives comme le réservoir Desaulniers, où la productivité trouvée varie de 2.0 à 9.3 $\mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$, un changement dans la méthode d'addition de ^3H -glucose permettra de conférer à la méthode la précision prédite. Ce changement pourra se réaliser de 3 façons: augmenter la concentration en ^3H -glucose ajoutée, réduire le temps d'incubation ou n'ajouter le ^3H -glucose qu'une ou deux heures avant la fin de l'incubation. Ces changements empêcheront une assimilation complète du ^3H -glucose durant les six heures d'incubation.

Une attention toute particulière devra être donnée aux sulfures si ceux-ci sont trouvés en concentration supérieure à 40 $\mu\text{g/l}$. Déjà à cette concentration de soufre organique réduit, Monheimer (17) met en évidence qu'il y a une inhibition significative de l'assimilation de SO_4 . Une concentration d'environ 100 $\mu\text{g/l}$ a déjà été détectée, le 2 août 1978, dans la colonne d'eau échantillonnée sur le réservoir Desaulniers. Mais les sulfures sont généralement à concentration négligeable dans les eaux oxygénées. Il faut donc s'assurer d'échantillonner une hauteur d'eau oxygénée.

Selon les expériences entreprises, certains changements à la méthode originale permettront d'en augmenter sa rapidité et d'en faciliter son exécution:

1. Employer des membranes Sartorius de porosité 0.45 μm .
(avantage: temps de filtration beaucoup plus court qu'avec les membranes de 0.2 μm).
2. Ne filtrer qu'après 10 ou 12 heures suite à la fixation au Lugol-AcOH (avantage: permettra d'échelonner le travail plus convenablement).
3. Filtrer en série (avantage: augmenter le nombre d'échantillons analysés dans un temps donné).

Des mesures de potentiel autotrophe et de productivité primaire (*in situ*) furent réalisées par les membres de l'équipe du Réseau de Surveillance Ecologique au cours de l'été 1978, c'est-à-dire en concomitance avec nos travaux sur la productivité hétérotrophe bactérienne. Pour les 4 stations, les valeurs de potentiel autotrophe varient de 0.05 à 2.89 $\mu\text{g C/l-h}$; selon la méthode utilisée, les valeurs de productivité primaire *in situ* s'étendent de 0.16 à 1.18 $\mu\text{g C/l-h}$ (bouteille à scintillation) et de 1.68 à 6.49 $\mu\text{g C/l-h}$ (fiolle de 125 ml). Les valeurs de productivité hétérotrophe bactérienne étant du même ordre de grandeur que celles de la productivité photosynthétique, il ne faudra plus négliger cet apport supplémentaire de production de matière organique particulaire.

6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ALLEN, H.L., 1971 Dissolved organic carbon utilization in size-fractionated algal and bacterial communities. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 56, 731-739.
2. AZAM, F. and O. HOLM-HANSEN, 1973. Use of tritiated substrates in the study of heterotrophy in sea-water. *Mar. Biol.* 23, 191-196.
3. BERMAN, T., 1975. Size fractionation of natural aquatic populations associated with autotrophic and heterotrophic carbon uptake. *Mar. Biol.* 33, 215-220.
4. BURNISON, K.B., 1975. Microbial ATP studies, *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 19, 286-290.
5. CAMPBELL, P.G.C. and J.H. BAKER, 1978 Estimation of bacterial production by simultaneous measurement of ^{35}S -sulphate and D- ^3H -glucose uptake in the dark. *Can. J. Microbiol.* 24, 939-946.
6. CAMPBELL, P.G.C. and J.H. BAKER, 1978. Measurement of sulphate uptake in the dark by suspended micro-organisms: application to running waters. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 20, 1423-1428.
7. HERBLAND, A. and J. PAGES, 1976. Note on the variability of heterotrophic activity measurements by the ^{14}C method in sea-water. *Mar. Biol.* 35, 211-214.
8. JASSBY, A., 1975. Dark sulphate uptake and bacterial productivity in a subalpine lake. *Ecology* 56, 627-636.

9. JORDAN, M.J. and B.J. PETERSON, 1978. Sulphate uptake as a measure of bacterial production. *Limnol. Oceanogr.* 23, 146-150.
10. JORDAN, M.J., R.J. DALEY and K. LEE, 1978 B. Improved filtration procedures for freshwater $^{35}\text{S}-\text{SO}_4$ uptake studies. *Limnol. Oceanogr.* 23, 154-157
11. JONES, H.G., C.-A. BACHAND, P. COUTURE, J.-J. FOURNIER, F. RODRIGUEZ, L. TALBOT (1977). Réseau de surveillance écologique: choix de paramètres pour le monitoring de la production microbologique des eaux douces du territoire de la baie James, Québec. INRS-Eau, rapport scientifique no 75, 322 p.
12. MCKINLEY, K., 1977. Light mediated uptake of ^3H -glucose in a small hard-water lake. *Ecology* 58, 1356-1365.
13. MIYACHI, S. and S. MIYACHI, 1966. Sulfolipid metabolism in chlorella. *Plant Physiol.* 41, 479-486.
14. MONHEIMER, R.H., 1974. Sulphate uptake as a measure of planktonic microbial production in freshwater ecosystems. *Can. J. Microbiol.* 20, 825-831.
15. MONHEIMER, R.H., 1974. Differential sulphate uptake by two species of bacteria under light or dark incubation conditions. *Can. J. Microbiol.* 20, 1429-1433
16. MONHEIMER, R.H., 1975. Planktonic microbial heterotrophy: its significance to community biomass production. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 19, 2658-2663.

17. MONHEIMER, R.H., 1975. Effects of three environmental variables on sulphate uptake by aerobic bacteria. *Appl. Microbiol.* 30, 975-981.
18. MONHEIMER, R.H., 1978. Difficulties in interpretation of microbial heterotrophy from sulphate uptake data: laboratory studies. *Limnol. Oceanogr.* 23, 150-154.
19. OVERBECK, J., 1974. Microbiology and biochemistry. *Mitt. Inter. Verein. Limnol.* 19, 198-223.
20. PARSONS, T.R. and J.D.H. STRICKLAND, 1962. On the production of particulate organic carbon by heterotrophic processes in sea water. *Deep Sea Res.* 8, 211-222.
21. SALONEN, K., 1974. Effectiveness of cellulose ester and perforated polycarbonate membranes filters in separating bacteria and phytoplankton. *Ann. Bot. Fennici* 11, 133-135.
22. SAUNDERS, G.W., 1972. The transformation of artificial detritus in lake water. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* 29, Suppl, 261-288.
23. SAUNDERS, G.W. 1976. Decomposition in freshwater.: *dans* The role of terrestrial and aquatic organisms in decomposition processes. Edité par J.M. Anderson and A. Macfadyen, Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 342-373.
24. STUIVER, M., 1967. The sulfur cycle in lake waters during thermal stratification. *Geochim. Cosmochim. Acta* 31, 2151-2167
25. VALLEE, M. et R. JEANJEAN, 1968. Le système de transport de SO_4^{-2} chez *Chlorella pyrenoidosa* et sa regulation, I: étude cinétique de la perméation. *Biochim. Biophys. Acta* 150, 599-606.

26. VERRICK, L.E., J.R. BEERS and J.F. HEINBOKEL, 1977. Possible consequences of containing microplankton for physiological rate measurements. *J. Exp. mar. Biol. Ecol.* 26, 55-76.
27. WEDDING, R.T. and M.K. BLACK, 1960. Uptake and metabolism of sulphate by chlorella. I. Sulphate accumulation and active sulphate. *Plant. Physiol.* 35, 72-80
28. WETZEL, R., 1975. *Limnology*, W.R. Saunders Compagny, Philadelphie, 1975, 743 p.
29. WRIGHT, R.J. and J.E. HOBBIIE, 1966. Use of glucose and acetate by bacteria and algae in aquatic ecosystems. *Ecology* 47, 447-464.

TABLEAU 1.1: VALEUR DE LA FRACTION DE SULFATE ASSIMILE PAR HEURE
AUX QUATRE STATIONS

Lac Detcheverry SB 400	Lac Béréziuk G2 403	La Grande Rivière G1 300	Réservoir Desaulniers G2 129
1.85×10^{-6} (24/6/78)	-----	5.63×10^{-6} (10/6/78)	7.53×10^{-5} (09/6/78)
8.83×10^{-7} (08/7/78)	7.01×10^{-6} (11/7/78)	7.38×10^{-6} (05/7/78)	9.27×10^{-5} (19/7/78)
8.06×10^{-7} (20/7/78)	3.15×10^{-6} (23/7/78)	6.90×10^{-6} (18/7/78)	2.30×10^{-5} (14/7/78)
1.39×10^{-6} (03/8/78)	1.78×10^{-6} (05/8/78)	6.90×10^{-6} (08/8/78)	5.94×10^{-5} (02/8/78)

TABLEAU 1.2: VALEURS DE LA FRACTION DE L'ACTIVITE MICROBIOLOGIQUE
HETEROTROPHE DANS L'ECHANTILLON FILTRE (F/NF) AUX
QUATRE STATIONS

Lac Detcheverry SB 400 (filtré sur 3 µm)	Lac Béréziuk G2 403 (filtré sur 3 µm)	La Grande Rivière G1 300 (filtré sur 5 µm)	Réservoir Desaulniers G2 129 (filtré sur 8 µm)
0.31 (24/6/78)	-----	0.36 (10/6/78)	* 1.15 (9/6/78)
0.31 (8/7/78)	* 0.80 (11/7/78)	0.27 (5/7/78)	1.22 (19/6/78)
0.13 (20/7/78)	0.19 (23/7/78)	0.49 (18/7/78)	0.78 (14/7/78)
0.39 (3/8/78)	0.62 (5/8/78)	0.47 (8/8/78)	0.71 (2/8/78)

*: filtré sur 5 µm

TABLEAU 1.3: VALEURS DE CHLOROPHYLLE-a ET DE PHEOPIGMENTS DANS LES ECHANTILLONS FILTRES (F) ET NON-FILTRES (NF) AUX QUATRE STATIONS, CALCULEES PAR FLUOROMETRIE.

Station Date	Chlorophylle-a - mg/m ³				Phéopigments - mg/m ³				(Chl-a + P) _x μm / (Chl-a + P) _{NF}		
	NF	F 8 μm	F 5 μm	F 3 μm	NF	F 8 μm	F 5 μm	F 3 μm	8 μm	5 μm	3 μm
<u>G2 129</u>											
09/6	3.62	-	1.40	-	0.24	-	0.29	-	-	0.42	-
19/6	3.33	1.01	1.04	0.56	0.78	1.19	0.55	0.41	0.53	0.39	0.24
04/7	0.51	1.42	0.35	0.86	1.00	0.44	0.41	0	0.53	0.33	0.33
14/7	1.98	0.29	1.41	0.22	0.87	0.09	0.44	0.28	0.48	0.53	0.30
26/7	10.55	3.29	-	0.92	0.33	0.35	-	0.28	0.33	-	0.11
02/8	14.91	6.60	6.42	4.13	0	0	0	0.53	0.44	0.43	0.31
10/8	10.55	4.62	5.07	-	0.50	1.00	0.04	-	0.51	0.46	-
<u>G1 300</u>											
10/6	1.49	-	0.29	-	0	-	0	-	-	0.19	-
05/7	0.81	-	0.42	-	0.43	-	0.27	-	-	0.56	-
18/7	1.32	-	0.55	-	0.55	-	0.24	-	-	0.42	-
08/8	2.20	-	0.71	0.45	0.58	-	0.09	0.20	-	0.29	0.23
<u>SB 400</u>											
24/6	1.87	-	-	0.50	0.52	-	-	0.06	-	-	0.23
08/7	0.99	-	0.58	0.31	0.31	-	0.13	0.10	-	0.54	0.32
20/7	0.96	-	0.53	0.36	0.31	-	0.15	0.07	-	0.54	0.34
31/7	1.10	0.45	0.41	0.27	0.31	0.19	0.14	0.09	0.45	0.39	0.25
03/8	1.00*	0.55	0.48	0.28	0.07*	0.18	0.15	0.09	0.68	0.40	0.35
10/8	1.47	-	0.61	0.45	0.51	-	0.18	0.05	-	0.40	0.25
<u>G2 403</u>											
11/7	2.35	-	1.15	0.84	0.54	-	0.30	0.15	-	0.50	0.34
23/7	1.84	-	-	0.41	0.63	-	-	0.15	-	-	0.23
05/8	1.36	0.73	0.72	0.39	0.51	0.25	0.17	0.12	0.52	0.47	0.27

* Valeur trouvée par spectro-photométrie (équation de Lorenzen).

TABLEAU 1.4: VALEURS DE SOUFRE ASSIMILE PAR HEURE EN $\text{ng S l}^{-1}\text{h}^{-1}$
AUX QUATRE STATIONS

Lac Detcheverry SB 400	Lac Béréziuk G2 403	La Grande Rivière G1 300	Réservoir Desaulniers G2 129
2.2 (24/6/78)	-----	5.1 (10/6/78)	62.7 (9/6/78)
1.2 (8/7/78)	7.0 (11/7/78)	4.9 (5/7/78)	92.6 (19/6/78)
1.3 (20/7/78)	3.2 (23/7/78)	8.0 (18/7/78)	15.3 (14/7/78)
1.8 (3/8/78)	1.8 (5/8/78)	5.8 (8/8/78)	39.6 (2/8/78)

C.V. = 0.39

C.V. = 0.67

C.V. = 0.24

C.V. = 0.63

TABLEAU 1.5: VALEURS DE LA PRODUCTIVITE BACTERIENNE EXPRIMEES
EN UNITES DE CARBONE ($\mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$) AUX QUATRE STATIONS

Lac Detcheverry SB 400	Lac Béréziuk G2 403	La Grande Rivière G1 300	Réservoir Desaulniers G2 129
0.7 (24/6/78)	-----	1.4 (10/6/78)	6.3 (9/6/78)
0.3 (8/7/78)	0.9 (11/7/78)	1.4 (5/7/78)	9.3 (19/6/78)
1.0 (20/7/78)	1.7 (23/7/78)	1.9 (18/7/78)	2.0 (14/7/78)
0.5 (3/8/78)	0.3 (5/8/78)	1.2 (8/8/78)	5.6 (2/8/78)

Productivité ($\mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$) pour SB 400, G2 403 et G1 300 \longrightarrow C.V. = 0.53

Productivité ($\mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$) pour G2 129 \longrightarrow C.V. = 0.52

TABEAU 1.6: VALEURS DE POTENTIEL AUTOTROPHE, PRODUCTIVITE PRIMAIRE *IN SITU*, (BOUEILLE A SCINTILLATION ET FIOLE DE 125 ml), ET PRODUCTIVITE BACTERIENNE EXPRIMEES EN UNITE DE CARBONE $\mu\text{g C/1-h}$ AUX QUATRE STATIONS.

Station/date	Potentiel autotrophe	Productivité primaire <i>in situ</i> (bouteille à scintillation)	Productivité primaire <i>in situ</i> (fiolle de 125 ml)	Productivité hétérotrophe bactérienne
<u>Lac Béréziuk</u> G2 403				
01/07/78	0.87	1.18	5.56	0.9
03/07/78	0.44	0.38	1.57	1.7
05/08/78	-	-	-	0.3
<u>Lac Detcheverry</u> SB 400				
08/06/78	0.25	0.16	6.49	-
24/06/78	-	-	-	0.7
08/07/78	0.28	-	-	0.3
02/07/78	0.41	0.31	1.68	-
10/07/78	-	0.21	1.93	1.0
03/08/78	-	0.23	1.79	0.5
<u>La Grande Rivière</u> G1 300				
03/06/78	0.55	-	-	1.4
05/07/78	0.05	-	-	1.4
03/07/78	0.19	-	-	1.9
03/08/78	0.60	-	-	1.2
<u>Réservoir Desaulniers</u> G2 129				
07/06/78	1.52	-	-	6.3
01/06/78	2.42	-	-	9.3
14/07/78	-	-	-	2.0
02/08/78	2.89	-	-	5.6

TABLEAU 1.7: VALEURS DE TEMPS DE "TURNOVER" EN HEURES
(TURNOVER TIME) AUX QUATRE STATIONS

Lac Detcheverry SB 400	Lac Béréziuk G2 403	La Grande Rivière G1 300	Réservoir Desaulniers G2 129
487 (24/6/78)	-----	62 (10/6/78)	33 (9/6/78)
502 (8/7/78)	398 (11/7/78)	38 (5/7/78)	30 (19/6/78)
330 (20/7/78)	119 (23/7/78)	57 (18/7/78)	63 (14/7/78)
178 (3/8/78)	*3976 (5/8/78)	212 (8/8/78)	38 (2/8/78)

* Valeur douteuse

TABLEAU 1.8: ECART-TYPE "s" (EN %) DE LA MOYENNE ASSOCIE A CHAQUE TERME DE L'EQUATION GENERALE DU CALCUL DE LA PRODUCTION

$$P = \frac{\text{dpm}(H_{a,nf} - H_{c,nf}) \times \text{dpm}(S_a - S_c)}{\text{dpm}(H_{a,f} - H_{c,f})} \times Y$$

ou
$$\frac{\text{dpm } H_{nf} \times \text{dpm } S}{\text{dpm } H_f} \times Y$$

Description	Lac Detcheverry SB 400	Lac Béréziuk G2 403	La Grande Riv. G1 300	Rés. Desaulniers G2 129
dpm $^3H_{nf}$	14, 6, 23, 15	8, 7, 10	5, 6, 7, 9	14, 5, (30), 5
dpm 3H_f	15, 8, (37), 4	3, (33), 12	4, 5, 18, 25	10, 4, 12, 3
dpm ^{35}S	12, 4, 20, 9	5, 7, 12	20, 4, 11, 4	8, 9, 12, 6
Test sur les moyennes pour dpm ^{35}S (net)	(28), 12, (68), (53)	8, 13, (41)	(38), 10, 14, 12	8, 9, 12, 6

○ Valeur dépassant 25%

Symboles: dpm: désintégration par minute
 nf: échantillon non filtré
 f: échantillon filtré
 a: active
 c: contrôle
 Y: autres termes de l'équation de production n'ayant pas d'écart-type "s" (ex: temps d'incubation, rapport {S/SO₄}, etc.)

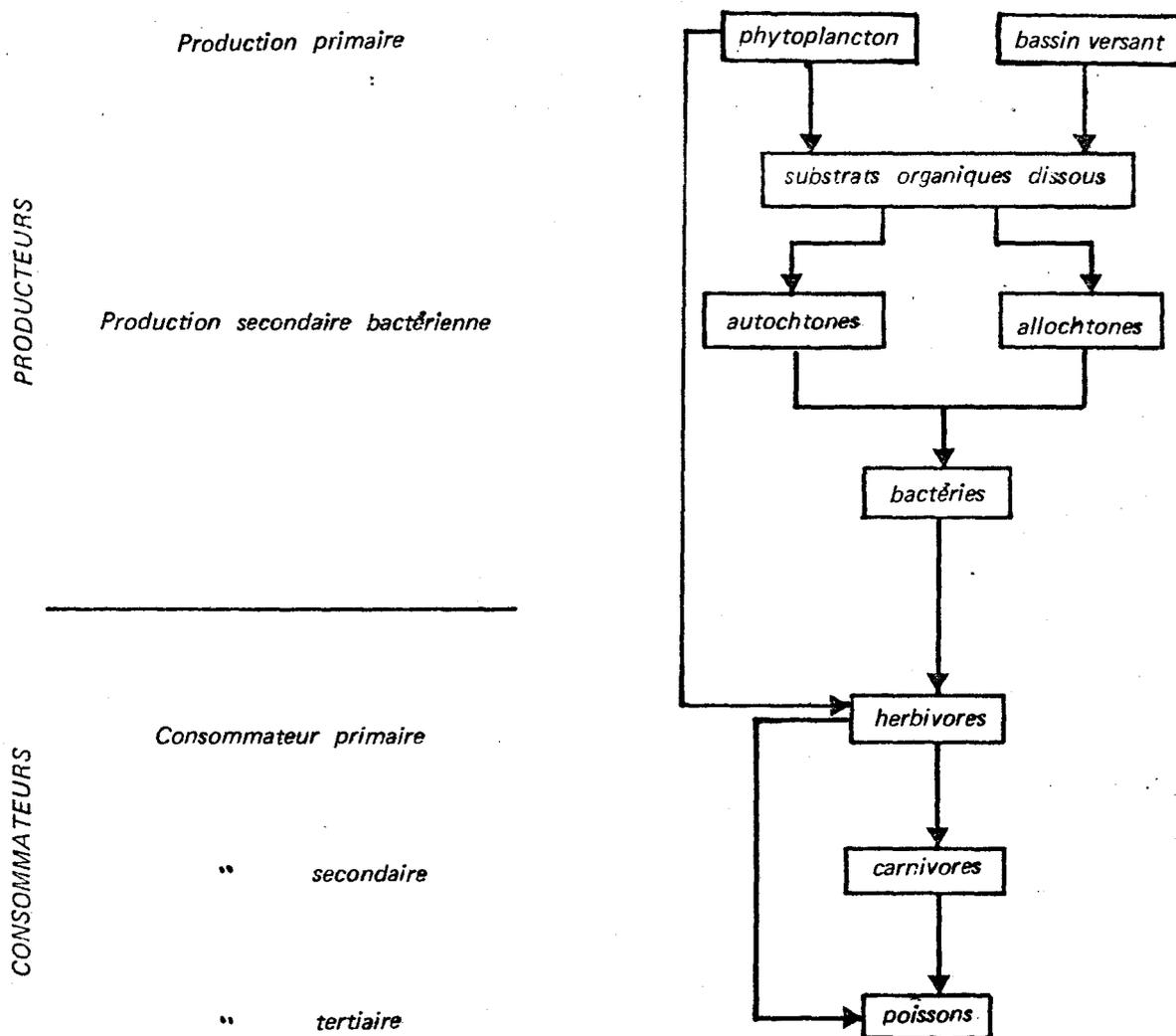


Figure 1.1: Bactéries dans la chaîne alimentaire aquatique.

modifié à partir de :
 Overbeck and Jurgan, Microbiology and Biochemistry,
 Mitt. Intern. Verein Limnol., 20, p. 213 (1974).

Evaluation de la productivité hétérotrophe secondaire
bactérienne des eaux du territoire de la Baie James par
la méthode d'assimilation simultanée de D-³H-glucose et
de ³⁵S-sulfate à l'obscurité.

par

RICHARD NORTHON, étudiant en maîtrise à l'INRS-Eau
sous la direction scientifique de P.G.C. Campbell

Rapport final

Institut National de la Recherche Scientifique

INRS-Eau

1978

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier ceux qui, de près ou de loin, m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail, tel que: M. Charles-Alain Bachand, limnologue à l'emploi de la SEBJ, M. Jean-Louis Fréchette, technicien, ainsi que toute l'équipe du laboratoire du lac Hélène. L'aide de M. P.G.C. Campbell sur le plan professionnel et personnel m'a été essentielle pour cette étude.

RESUME

La méthode ^3H -glucose/ ^{35}S -sulfate, qui avait été mise au point pour les eaux courantes fortement minéralisées, s'est avérée également applicable pour les eaux faiblement minéralisées du Bouclier canadien.

Du mois de juin à septembre 1978, les valeurs de productivité hétérotrophe bactérienne obtenues par la méthode d'assimilation simultanée de D- ^3H -glucose et de ^{35}S -sulfate à l'obscurité varient de 0.3 à 1.7 $\mu\text{g C}/\ell\text{-h}$ pour les stations du lac Detcheverry (SB 400) lac Béréziuk (G2 403) et La Grande Rivière (G1 300). Pour les eaux plus productives, tel le réservoir Desaulniers, les valeurs sont nettement plus élevées, s'échelonnant de 2.0 à 9.3 $\mu\text{g C}/\ell\text{-h}$.

La comparaison de ces valeurs à celles de productivité primaire, faites en concomitance avec nos analyses, montre l'importance des bactéries dans la production de matière organique particulaire dans les systèmes aquatiques étudiés.

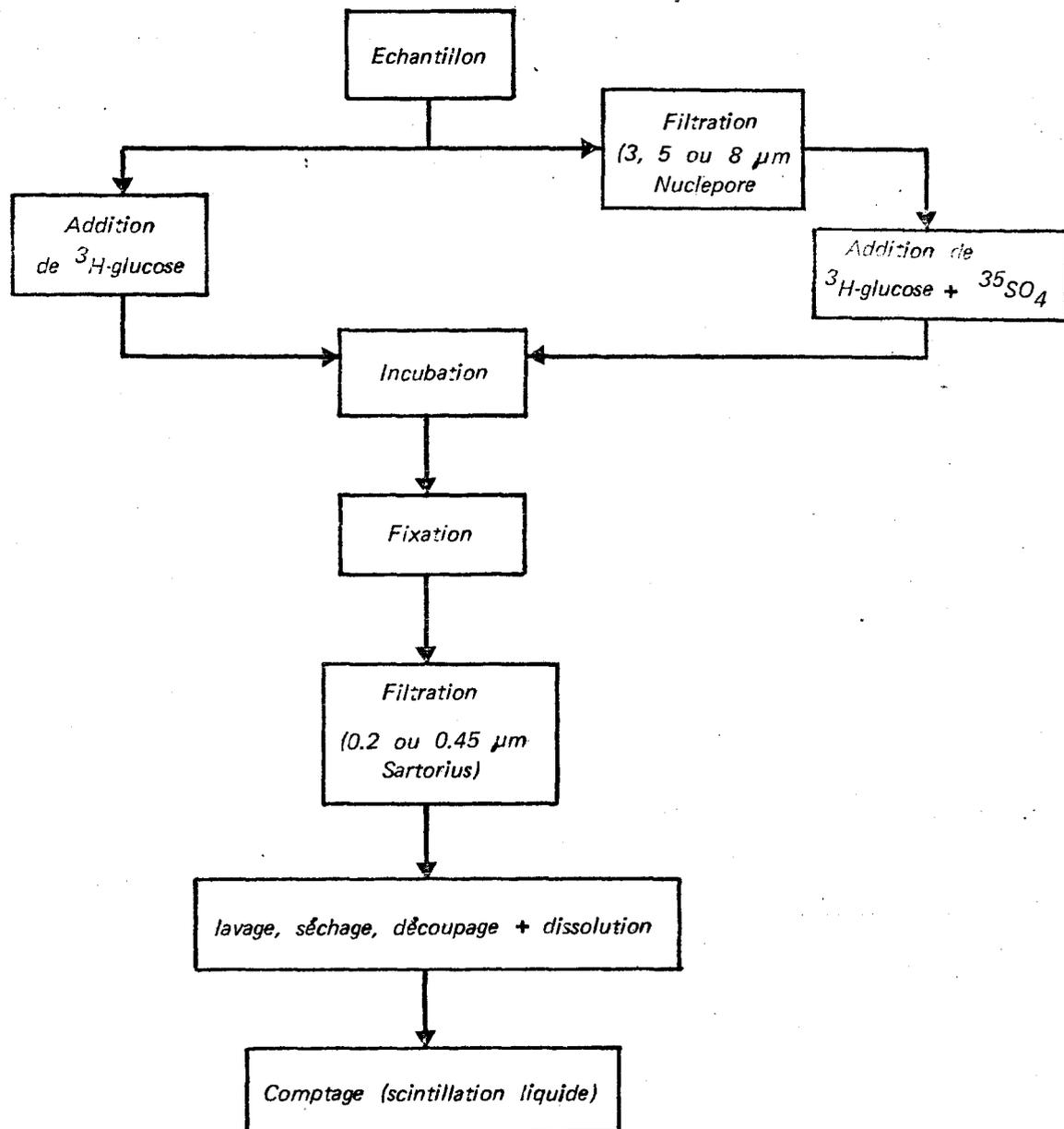


Figure 1.2: Schéma général de la méthode.

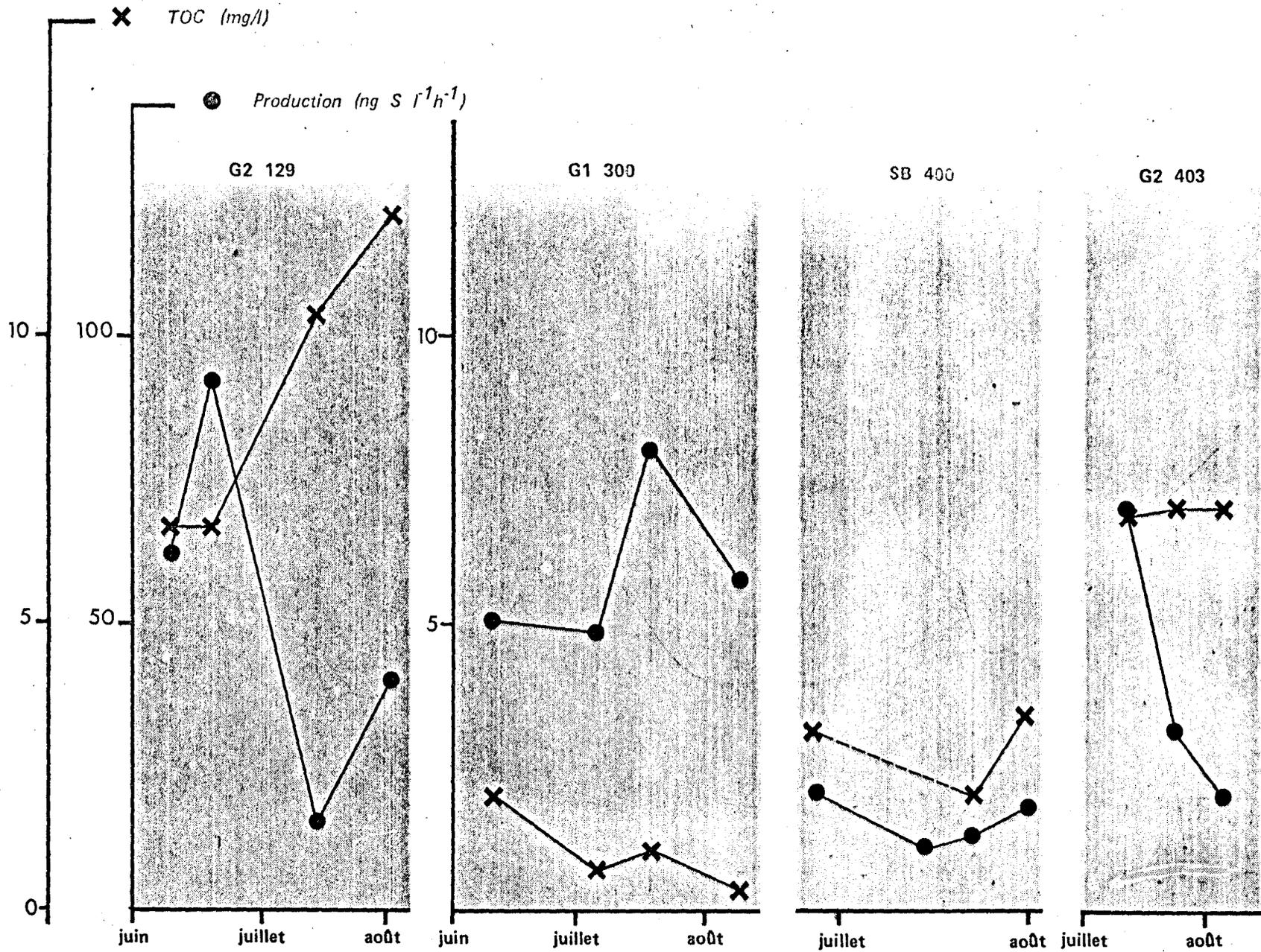


Figure 1.3: Variation de la productivité hétérotrophe bactérienne en termes de soufre, et de la concentration en carbone organique dissous, en fonction du temps aux quatre stations.

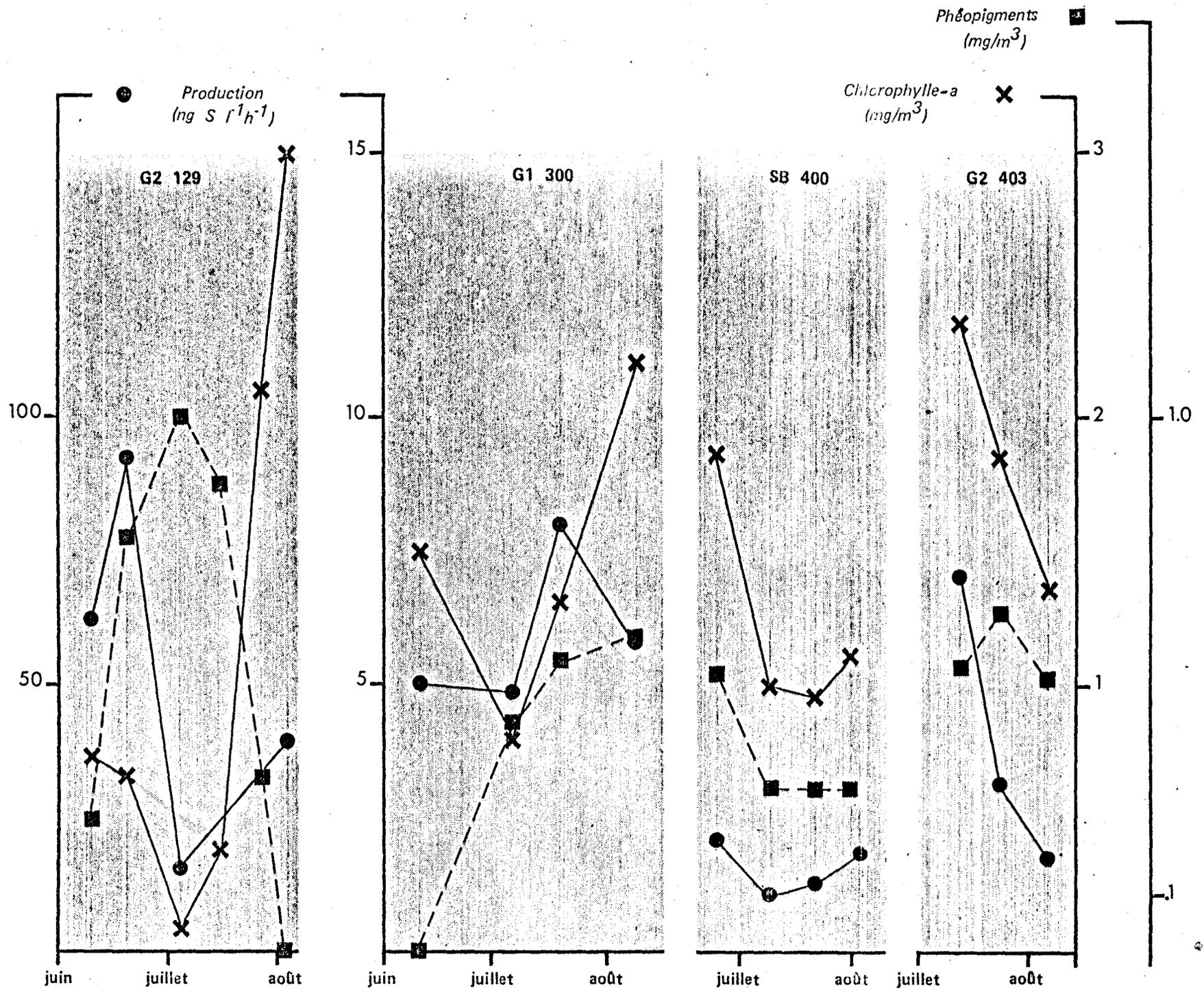


Figure 1.4: Variation de la productivité hétérotrophe bactérienne en termes de soufre, de la concentration en chlorophylle-a et de la concentration en phéopigments, en fonction du temps aux quatre stations.

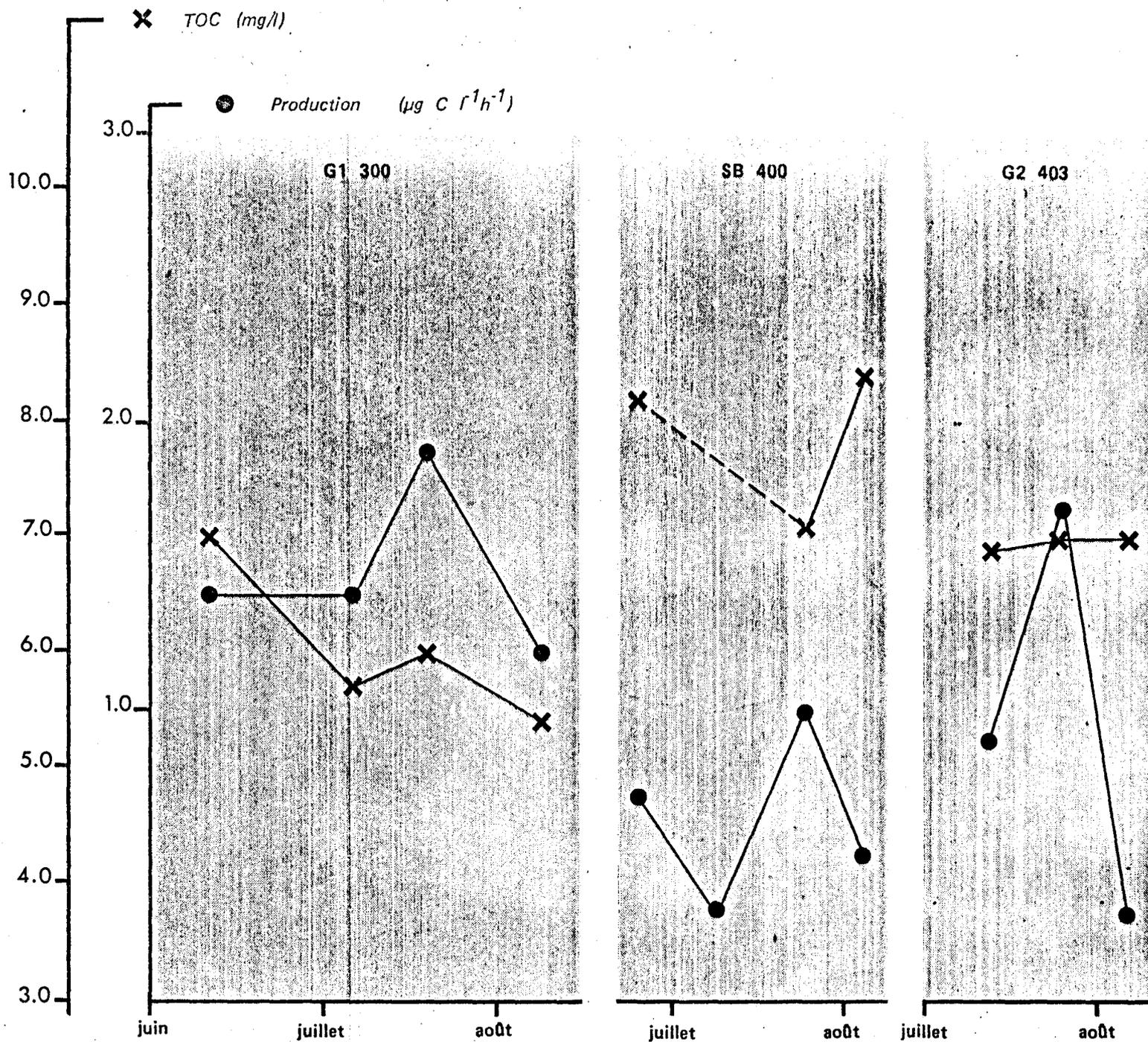


Figure 1.5: Variation de la productivité hétérotrophe bactérienne en termes de carbone particulaire, et de la concentration en carbone organique total, en fonction du temps aux stations G1 300, SB 400 et G2 403.

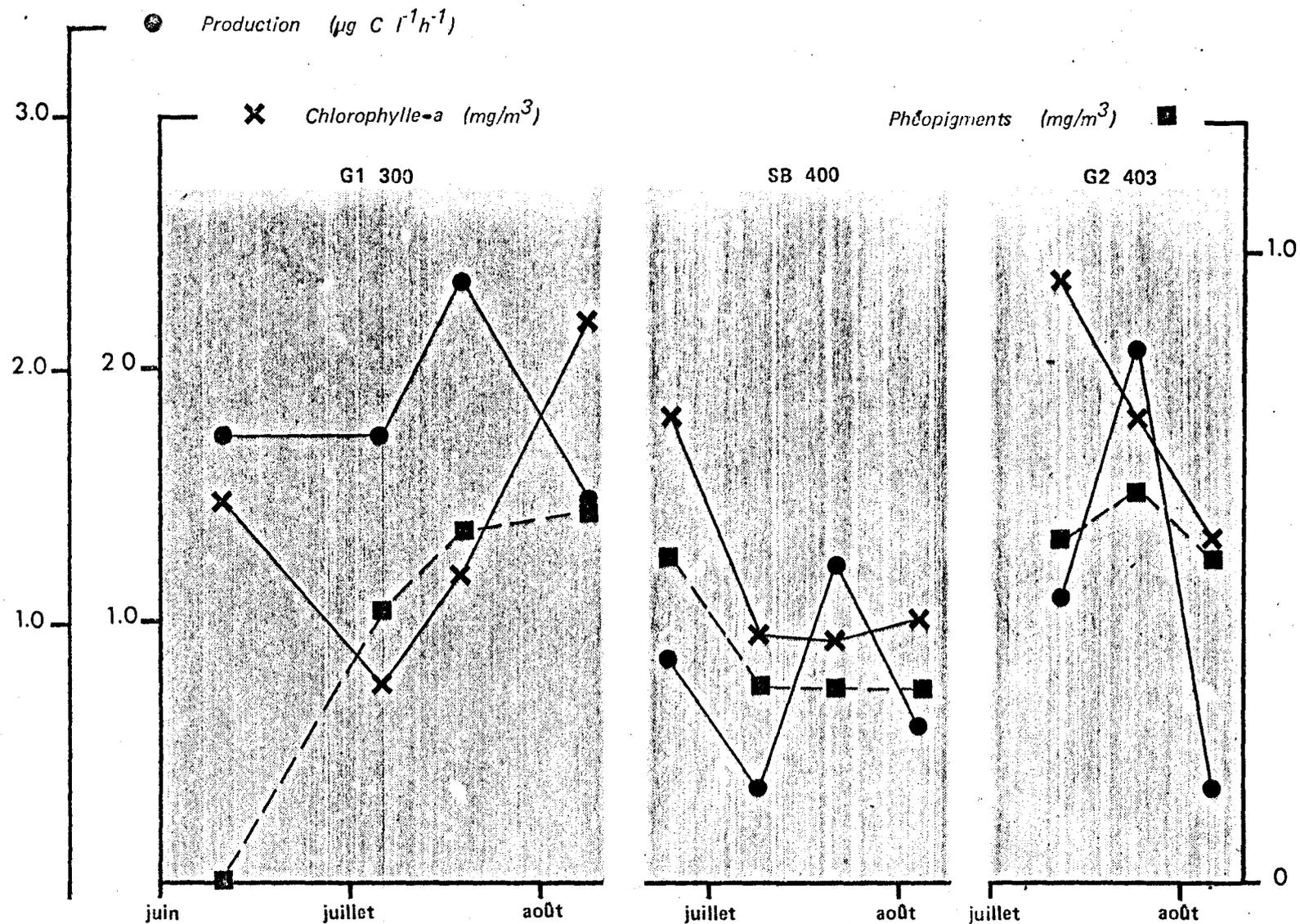


Figure 1.6: Variation de la productivité hétérotrophe bactérienne en termes de carbone particulaire, de la concentration en chlorophyll-e-a et de la concentration en phaeopigments, en fonction du temps aux stations G1 300, SB 400 et G2 403.

ANNEXES

ANNEXE 1

Protocole expérimental détaillé de la méthode de la mesure simultanée de l'assimilation dans l'obscurité du ^{35}S -sulfate et du D- ^3H -glucose.

A) Préparation de la solution mère du D- ^3H -glucose

1. Préparer de l'eau déionisée sans traces organiques en la soumettant à la lumière ultraviolet à 80°C pendant 4 heures dans des éprouvettes faites en quartz.
2. Centrifuger la bouteille de glucose (1 mCi) à 1000 tours/min. pendant 15 minutes.
3. Ouvrir la bouteille et transférer le contenu dans un erlenmeyer de 25 ml (autoclavé).
4. Diluer à 25 ml avec de l'eau déionisée et irradiée (rayons ultraviolets).
5. Aspirer à peu près 22.5 ml avec la seringue à stérilisation (50 ml) sans l'appareil à stérilisation.
6. Replacer l'appareil à stérilisation contenant un filtre Sartorius, 25 mm., $0.2\ \mu\text{m}$, stérilisé et rincé avec 2 x 100 ml d'eau irradiée à l'ultra violet.
7. Distribuer la solution dans 8 ampoules de 5 ml, lesquelles ont été préalablement autoclavées ($\sim 115\ \mu\text{Ci}/\text{ampoule}$).
8. Diluer le 2.5 ml qui reste (voir étape no 4) à 25 ml, filtrer comme ci-dessus et distribuer dans 7 ampoules ($15\ \mu\text{Ci}/\text{ampoule}$).
9. Sceller les ampoules et garder à 5°C et à la noirceur.

B) Préparation de la solution mère de $^{35}\text{SO}_4$

1. Centrifuger la bouteille de $^{35}\text{SO}_4$ (1 mCi) à 1000 tours/min.
2. Ouvrir la bouteille.
3. Diluer le contenu à ~ 3 ml avec de l'eau déionisée.
4. Aspirer ces ml avec une seringue à stérilisation sans l'appareil à stérilisation.
5. Replacer l'appareil à stérilisation, qui contient une membrane Sartorius $0.2 \mu\text{m}$, 25 mm, rincée préalablement avec 2 x 25 ml de l'eau déionisée.
6. Distribuer la solution dans une éprouvette précalibrée à 20 ml.
7. Répéter les étapes 3 à 6, 4 fois.
8. Compléter la solution filtrée à 20 ml avec de l'eau déionisée.
9. Distribuer cette solution dans 5 ampoules à raison de 2 ml/ampoule ou $\sim 100 \mu\text{Ci/ampoule}$.
10. Sceller les ampoules et les autoclaver pendant 15 minutes à 121°C .
11. Garder les ampoules à 5°C à la noirceur.

C) Expérience

1. Autoclaver: 10 erlenmeyers 250 ml; 1 cylindre prégradué à 110 ml; 2 systèmes à filtration Millipore avec une membrane Nuclepore (3, 5 ou 8 μm ; 47 mm).
2. Ouvrir l'ampoule de H-glucose; transférer le contenu à un ballon à fond rond de 100 ml; évaporer l'eau sous vide grâce à un appareil à vide (tube relié à une trappe à vide), en prenant soin de ne pas dépasser 40°C; ajouter 0.5 ml d'eau ultrapure; évaporer de nouveau; ajouter 2.5 ml d'eau ultrapure.
3. Ouvrir l'ampoule de $^{35}\text{SO}_4$. Transférer le contenu à une éprouvette. Diluer à 2.5 ml.
4. Filtrer ~600 ml de l'échantillon d'eau à travers une membrane Nuclepore (3, 5 ou 8 μm) sous une pression \leq 100 mm de Hg.
5. Pendant le # 4, distribuer 5 x 110 ml de l'échantillon non filtré dans 5 erlenmeyers (numérotés 1 à 5), en brassant bien l'échantillon avant de prendre chaque sous-échantillon.
6. Distribuer 5 x 110 ml de l'échantillon filtré dans 5 erlenmeyers de 250 ml (numérotés de 6 à 10).
7. Ajouter 0.2 ml de la solution de D- ^3H -glucose à toutes les fioles.
8. Ajouter 0.4 ml de la solution de $^{35}\text{SO}_4$ aux fioles numérotées 6 à 10.
9. Fixer immédiatement après les fioles numérotées 4, 5, 9 et 10 avec 1.1 ml de Lugol-AcOH.

10. Incuber toutes les fioles au moins 5 hres à l'obscurité à la température du plan d'eau échantillonné.
11. Prendre une aliquote de ~1 ml de la solution # 1, fixer le contenu de la fiole avec 1.1 ml de Lugol-AcOH, et retourner la fiole à l'incubateur.
12. Répéter pour # 2, 3, 6, 7 et 8 en notant le temps d'addition du fixatif (c.à.d. la durée de l'incubation).
13. Filtrer 2 x 50 ml selon l'ordre suivant: blanc, témoins et fioles actives.
14. Pour le blanc, filtrer 2 x 50 ml de l'échantillon initial non filtré sur le système à filtration Sartorius avec membrane Sartorius 0.2 μm ou 0.45 μm ; rincer avec 2 x 25 ml de Na_2SO_4 (1 g/l).
15. Enlever la membrane; découper le filtre avec un perceur de bouchon # 10; éliminer l'extérieur (attention: contamination des pinces). Sécher l'intérieur 5 min. à l'air; placer dans une bouteille à scintillation. Ajouter 10 ml d'Unisolve.
16. Répéter 14 et 15 pour 4, 5, 9 et 10.
17. Répéter 14 et 15 pour 1, 2, 3 et 6, 7, 8.
18. Préparer les standards en plaçant 50 μl de l'aliquote prise en 11 pour # 1, 2, 3, 6, 7 et 8 dans des bouteilles à scintillation. Ajouter 10 ml d'Unisolve.
19. Après au moins 16 hres, ajouter 5 ml de Na_2SO_4 (15 mg/l) à toutes les bouteilles à scintillation, et agiter fortement pour émulsifier.
20. De façon concomitante, doser sur l'échantillon entier: SO_4 , TOC, chlorophylle-a. Doser sur l'échantillon filtré (Nuclepore, 3 ou 5 μm): chlorophylle-a.

Dans le but de faciliter l'application de la méthode au point de vue rendement et rapidité, certaines étapes pourraient être modifiées si cela s'avère utile. Nous avons examiné ces points afin d'approuver ou non leur modification ultérieure. Les points analysés étaient les suivants:

- Effet de différents modes de fixation (annexe 2-A).
- Variation des cpm ^3H et ^{35}S après fixation au Lugol-AcOH en fonction du temps (annexe 2-B).
- Comparaisons entre membranes de porosités différentes (0.2 vs 0.45 μm ; Sartorius) (annexe 2-C).
- Importance de ne pas laisser sécher les membranes lors des filtrations (annexe 2-D).

Face à certaines critiques possibles quant à la validité de l'assimilation de sulfate à l'obscurité comme mesure de la production hétérotrophe microbienne, nous avons aussi vérifié quelques aspects plus fondamentaux, tels que:

- Vérifier l'efficacité de la séparation entre les algues et les bactéries par filtration sur des membranes Nuclepore de 3, 5 ou 8 μm (annexe 3-A).
- Vérifier si la séparation entre bactéries (<5 μm) et le plancton (>5 μm) doit se faire avant ou après l'incubation (annexe 3-B).
- Vérifier l'effet de la lumière sur l'assimilation du glucose (c.f. McKinley, 1977 (12)) (annexe 3-C).
- Vérifier la linéarité de l'assimilation du glucose et du sulfate (annexe 3-D).

ANNEXE 2-A

EXPERIENCE DE FIXATION: LUGOL, Na_2SO_4 , FILTRATION IMMEDIATE
(Lac H el ene, 27 juillet 1978)

But: Le but de cette exp erieence est de comparer trois façons de fixer les échantillons actifs.

Protocole exp erimental

Ajouter du ^3H -glucose et du $^{35}\text{SO}_4$ à l'échantillon d'eau. Prendre un aliquote de 1 ml après ces additions. Incuber toute la nuit à la température de la pièce et à l'obscurité. Prendre 3 sous-échantillons de 210 ml et traiter séparément comme suit:

1. Filtrer immédiatement.
2. Ajouter Lugol-AcOH.
3. Ajouter $\text{Na}_2\text{SO}_4 \sim 3$ ml (100 g/l).

Filtrer le # 3 et ensuite le # 2 selon la procédure normale.

Résultats et discussion

Cette exp erieence indique (tableau 2.1) que pour le ^3H -glucose, la fixation au Lugol donne des résultats significativement plus faibles ($\sim 12\%$) que la filtration immédiate ou le Na_2SO_4 , (cf. Wright et Hobbie (29) $\sim 5\%$ pour le ^{14}C -glucose, et Campbell et Baker (5) $\sim 10\%$ pour le ^3H -glucose). Par contre, pour le $^{35}\text{SO}_4$, les résultats ne varient pas significativement entre la filtration immédiate, l'addition d'une concentration élevée en SO_4 , ou encore l'addition de Lugol-AcOH.

Comme les valeurs de ^3H -glucose dans l'échantillon entier et dans l'échantillon filtré sont traitées de la même façon, c'est-à-dire que toutes les deux baissent du même pourcentage, et comme les valeurs de ^{35}S ne changent pas significativement d'un mode de fixation à l'autre, l'emploi de Lugol-AcOH comme fixatif peut être conservé sans problème.

Notons que l'emploi de Na_2SO_4 concentré comme fixatif est recommandé par Jordan *et al* (9), qui explique que la fixation "sans tuer", c'est-à-dire réduire l'assimilation de $^{35}\text{SO}_4$ à un niveau négligeable sans tuer les micro-organismes, permet d'éviter les problèmes potentiels de lyse associés à l'emploi d'un fixatif traditionnel.

Cependant, ce mode de fixation ne peut évidemment être utilisé pour arrêter l'assimilation de ^3H -glucose. De toute façon, dans le cas de l'assimilation de sulfate, les résultats de la présente expérience ne signalent pas de différences significatives entre la fixation avec Lugol-AcOH et la fixation avec un excès de sulfate; en d'autres termes, la lyse partielle provoquée par l'addition de Lugol-AcOH ne semble influencer le soufre intracellulaire.

En ce qui concerne la filtration immédiate, il faudrait tenir compte du temps passé entre la première et la dernière filtration (soit ~ 2 heures) afin de corriger l'assimilation durant le temps écoulé, ce qui s'avère presque impossible à faire. Notons les travaux précédents de Campbell et Baker (5) sur les fixatifs tels que l'acide phosphorique (5%) et la formaline; eux aussi préconisent l'emploi de Lugol-AcOH comme le fixatif de choix.

ANNEXE 2-B

VARIATION DU cpm ^3H et ^{35}S EN FONCTION DU TEMPS APRES FIXATION
AU LUGOL- AcOH
(Lac Hélène, 27 juillet 1978)

But: Le but de cette expérience est de regarder la variation de la valeur du cpm pour le ^3H -glucose et le ^{35}S , après la fixation au Lugol- AcOH en fonction du temps.

Protocole expérimental

Prendre un échantillon d'eau du milieu à étudier de 1.2 litres. Ajouter le D- ^3H -glucose. Brasser et extraire une aliquote de 1 ml. Ajouter le $^{35}\text{SO}_4$, brasser et prendre encore une aliquote de 1 ml. Prendre 210 ml, fixer immédiatement, incuber et filtrer à la fin de l'expérience (4 x 50 ml). Incuber l'échantillon principal à l'obscurité, toute la nuit à la température de la pièce. Filtrer 4 x 50 ml, fixer le reste de l'échantillon au Lugol- AcOH et filtrer 4 x 50 ml après 1, 2, 5, 15 et 25 h de la fixation.

Résultats et discussion

On s'aperçoit selon le tableau 2.2 et la figure 2.1, que la fixation au Lugol- AcOH abaisse la valeur du cpm en fonction du temps. Cette valeur se stabilise après 5 h de fixation. La valeur après 25 h de fixation marque une remontée mais on croit que c'est dû aux détritrus accumulés au fond de la fiole ayant servi à l'expérience.

Ces résultats ne correspondent pas à ceux obtenus par Campbell (communication personnelle). En effet, celui-ci trouvait une légère augmentation pendant les deux heures suivant la fixation et attribuait ce résultat

à l'adsorption de $^{35}\text{SO}_4$ sur les sédiments en suspension, cette adsorption étant relativement lente (quelques heures pour atteindre l'équilibre) et favorisée par un pH faible. Ainsi, une étude plus approfondie devra être entreprise pour conclure sur ce sujet, lequel est quand même très important au point de vue pratique.

Souvent, les échantillons entrés au laboratoire en fin d'après-midi sont incubés jusqu'à tard en soirée; ils sont ensuite fixés et filtrés une heure après leur fixation. Ainsi le travail se termine très tard, ce qui influence souvent la qualité du travail! Or, si la filtration pouvait se faire le lendemain matin, le travail deviendrait moins harassant.

ANNEXE 2-C

FILTRATION AVEC MEMBRANE SARTORIUS 0.2 μm VS 0.45 μm .
(Lac Detcheverry, 28 juin 1978 et 31 juillet 1978)

But: Le but de cette expérience est de regarder les différences que l'on obtient en filtrant avec des membranes de porosités différentes.

Protocole expérimental

Prendre l'échantillon, filtrer (5 μm) \sim 1.1 litre. Au filtrat (1.1 litre) ajouter du ^3H -glucose et du $^{35}\text{SO}_4$; incuber pendant \sim 6 heures dans l'obscurité avec agitation à la température de la pièce. Fixer au Lugol-AcOH; après un temps de contact de 1 heure avec le Lugol, filtrer 20 x 50 ml en employant alternativement des membranes 0.2/0.45 μm pour obtenir 10 échantillons de chacune des membranes: laver, découper, sécher, etc.

Résultats et discussion

Les résultats de cette expérience, au tableau 2.3, font voir que l'on peut employer les membranes Sartorius de porosité 0.45 μm au lieu de celles de 0.2 μm . Souvent retrouve-t-on des valeurs légèrement plus élevées pour les membranes ayant une porosité nominale de 0.45 μm . Ce fait serait probablement attribuable au temps pris pour la filtration ainsi qu'à la pression de 250 mm de Hg exercée sur la membrane pouvant provoquer une lyse d'une partie des cellules bactériennes et ainsi diminuer la valeur de radioactivité.

A la lumière de ces résultats, il serait préférable d'utiliser les membranes Sartorius 0.45 μm , dont le principal avantage est la rapidité de filtration sans baisse de la valeur de cpm.

ANNEXE 2-D

IMPORTANCE DE NE PAS LAISSER ASSECHER LES MEMBRANES LORS DES FILTRATIONS
(Lac Detcheverry, 3 juillet 1978)

But: Le but de cette expérience est de mesurer l'effet de laisser les membranes sous vide pendant un certain laps de temps.

Protocole expérimental

Prendre un échantillon (1.2 litres). Ajouter du D-³H-glucose, incubé pendant 6 heures dans l'obscurité avec agitation, à la température de la pièce; fixer avec le Lugol-AcOH; attendre 1 heure, filtrer 22 x 50 ml selon l'ordre suivant:

- A: 6 x 50 ml: procédure normale
- B: 4 x 50 ml: laisser membrane sous vide (250 mm de Hg) sur appareil à filtration pendant 10 minutes avant de l'enlever, découper, etc.
- C: 4 x 50 ml: laisser les membranes sous vide pendant 20 minutes avant de l'enlever...
- D: 4 x 50 ml: comme en C, mais après 20 minutes, rincer avec 1 x 25 ml de Na₂SO₄ 1 g/l (pour enlever la matière radioactive qui aura diffusé vers le centre de la membrane).
- E: 4 x 50 ml: procédure normale.

Résultats et discussion

Selon le tableau 2.4, il n'est pas nécessaire d'enlever les membranes immédiatement après le rinçage, tel que préconisé dans la procédure normale. En effet, il n'y a point de différences significatives après 10

ou 20 minutes sous vide. Par contre, un rinçage de 25 ml de Na_2SO_4 (1 g/l) après avoir laissé le filtre 20 minutes sous vide provoque une baisse d'environ 20% par rapport à la valeur moyenne de la procédure normale. Le lavage semble entraîner de la matière lessivée des cellules par le vide (début de lyse).

Les membranes peuvent donc demeurer sous vide pendant au moins 20 minutes sans risque de pertes, ce qui nous permet d'imaginer des filtrations en série. Cependant, pour plus de sécurité, cette expérience devrait être répétée avec le $^{35}\text{SO}_4$ et profilée sur une plus longue durée, soit 30 minutes, 1 heure, ...

ANNEXE 3-A

VERIFICATION DE L'EFFICACITE DE LA SEPARATION ENTRE ALGUES ET BACTERIES
PAR FILTRATION SUR 3,5 OU 8 μm .

(Lac Detcheverry, 3 août 1978; Réservoir Desaulniers, 10 août 1978,
Lac Béréziuk, 5 août 1978.)

But: Le but de cette expérience est de comparer les résultats obtenus de
la filtration en chlorophylle α avec le comptage semi-quantitatif
et le potentiel autotrophe.

Protocole expérimental

Prendre un échantillon d'eau du lac Detcheverry. Filtrer sur membrane
Nuclepore de 3 μm . Déterminer la concentration en chlorophylle- α , le
comptage semi-quantitatif et le potentiel autotrophe sur l'échantillon
entier et sur l'échantillon filtré. Répéter l'expérience avec l'eau du
réservoir Desaulniers (G2 129) en filtrant sur 3 et 8 μm .

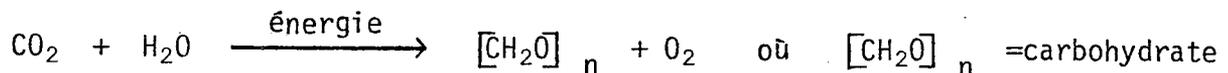
En ce qui concerne le comptage semi-quantitatif, j'aimerais remercier
Mlle Louise Achard ainsi que le personnel du laboratoire d'écologie de
l'Université de Montréal, pour leur collaboration et leurs conseils utiles
à cette expérience.

Résultats et discussion

La détermination de la concentration en chlorophylle- α des échantillons
entiers (non filtrés) et des échantillons filtrés a été effectuée par la
méthode de fluorométrie. Les résultats sont présentés au tableau 3.1;
le rapport {chlorophylle- α dans le filtrat/chlorophylle- α entier} figure
également dans ce tableau. Grâce à ce rapport, on estime le pourcentage
de cellules entières ou fragmentées (contenant encore de la chlorophylle- α)

passant à travers les filtres. Afin de pousser un peu plus loin l'étude des organismes < 3 ou 8 μm , nous avons demandé au laboratoire d'écologie de l'Université de Montréal un dénombrement semi-quantitatif des organismes traversant les membranes Nuclepore. Il s'agit de compter, sous microscope, les individus présents jusqu'à un nombre de cellules constant (50 ou 100). Dans le tableau 3.1, les valeurs de dénombrement se rapprochent de celles calculées avec la chlorophylle- a . Les cellules retrouvées dans les échantillons filtrées *semblent* en bon état et leurs dimensions cellulaires sont presque toujours inférieures à la porosité nominale de la membrane, sauf pour un faible nombre d'algues filiformes qui réussissent à passer malgré leur dimension longitudinale plus grande que la porosité de la membrane (L. Achard, comm. personnelle). Par contre, il ne faut pas oublier que le comptage des organismes a une limite de détection d'environ 1 μm et le discernement entre 1 et 3 μm du bon état des micro-organismes semble très difficile; encore reconnaît-on les flagellés (à cause de leurs flagelles) qu'il leur est impossible d'en tirer de plus grandes conclusions tant qu'à leur bon état. Ce qui frappe, à l'examen du nombre d'individus présents dans ces eaux, c'est la prédominance quasi-totale des micro-flagellés dans ces eaux filtrées. Mais ces organismes sont-ils actifs? Un test avec la méthode de potentiel autotrophe permet de répondre à cette question.

Le potentiel autotrophe permet d'évaluer la production de carbone particulaire effectuée par les organismes photo-autotrophes à partir du CO_2 et de la lumière (énergie) selon l'équation simplifiée:



En leur donnant du CO_2 marqué sous forme de $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$, on peut évaluer le potentiel autotrophe.

Les résultats des échantillons filtrés et non-filtrés mettent en évidence que *les échantillons filtrés sont très peu productifs comparés aux non-filtrés*, surtout dans le cas des eaux du lac Detcheverry. Cette faible

productivité nous rassure sur l'efficacité de la séparation algues-bactéries, car même en étant en assez grand nombre dans les échantillons filtrés, les organismes autotrophes sont très peu productifs. Un autre test de potentiel autotrophe effectué sur le lac Béréziuk montre que la production de l'échantillon filtré sur 3 μm est plus petite que la limite de détection.

Ainsi, nous avons démontré, indirectement, l'efficacité de la filtration sur des membranes Nuclepore de 3 μm . Les valeurs indiquent qu'il faudra, lorsque possible, travailler avec cette porosité car avec le filtre de 8 μm , 19% de la production primaire est réalisée, ce qui risque de surestimer quelque peu la production hétérotrophe dû à l'assimilation de sulfate à l'obscurité par les organismes autotrophes présents.

ANNEXE 3-B

SEPARATION PRE-INCUBATION VS POST-INCUBATION

(Lac en Coeur, 1 juin 1978; Réservoir Desaulniers, 26 juillet 1978)

But: Le but de cette expérience est de vérifier si la séparation entre les bactéries (<5 μm) et le plancton (>5 μm) doit se faire avant ou après l'incubation.

Protocole expérimental

- A. Filtrer sur Nuclepore 5 μm (1 litre). Préparer 4 fioles actives et 2 fioles de contrôle chacune avec 110 ml de *filtrat*. Ajouter le ^3H -glucose (et le $^{35}\text{SO}_4$ pour Desaulniers). Fixer les deux fioles témoins au Lugol-AcOH et incuber à l'obscurité au moins 5 heures à la température du milieu. Fixer les fioles actives, filtrer sur 0.2 ou 0.45 μm . Laver, découper, assécher, etc.
- B. Préparer 4 fioles actives et deux fioles témoins avec chacune 110 ml d'eau non-filtrée. Ajouter le ^3H -glucose et le $^{35}\text{SO}_4$. Fixer les deux fioles témoins. Incuber tel qu'en A, puis fixer les fioles actives. Pour chaque fiole, prendre 50 ml et filtrer directement sur 0.45 μm ou 0.2 μm ; prendre \sim 60 ml et filtrer d'abord sur Nuclepore 5 μm et après sur Sartorius 0.2 μm ou 0.45 μm . Laver, découper, assécher, etc.

Résultats et discussion

Lorsque l'on sépare le phytoplancton des bactéries, une question se pose, à savoir si l'on doit effectuer la séparation avant ou après l'incubation. En effet, lorsque l'on filtre au début de l'expérience, les bactéries sont soumises à un certain stress, car elles sont soumises à une dépression (\sim 100 mm de Hg) et forcées à-travers le filtre. Par contre, pendant l'incubation, la coagulation et l'aggrégation possible des organismes

peuvent empêcher ceux-ci de passer à-travers le filtre, faussant ainsi les résultats.

Pour le lac en Coeur, on voit dans le tableau 3.2 qu'il n'y a pas de différence à filtrer, c'est-à-dire séparer les organismes, avant ou après l'incubation.

Par contre, pour le réservoir Desaulniers, la séparation doit être effectuée avant l'incubation selon les résultats du tableau 3.2. En effet, une différence significative de 25% se manifeste entre la séparation pré-incubation et post-incubation.

Ces grandes différences sont quand même un peu surprenantes et voudraient indiquer que les bactéries s'accrochent aux détritrus pour les décomposer tout au long de l'incubation et lors de la filtration celles-ci demeurent sur les particules $>5 \mu\text{m}$. Comme autre explication possible, mentionnons les phénomènes de coagulation et d'aggrégation qui auraient pour effet de réduire les valeurs de cpm mesurées dans l'expérience de filtration après incubation.

Un petit calcul simple permet de montrer que les algues assimilent, elles aussi, le sulfate à la noirceur. Faites le rapport de la valeur de cpm filtré pré-incubation et divisez par le cpm de l'échantillon entier pour le D- ^3H -glucose et le $^{35}\text{SO}_4$. Si les algues n'assimilaient pas de sulfate dans l'échantillon entier, on trouverait un rapport entre D- ^3H -glucose et $^{35}\text{SO}_4$ à peu près semblable. Mais un rapport faible de 0.68 comparé à 0.90 veut dire que le dénominateur, c'est-à-dire l'échantillon entier, se trouve surestimé par l'assimilation:

$$\begin{array}{ccc}
 \frac{\text{cpm } ^3\text{H de la fraction } <5 \mu\text{m}}{\text{cpm } ^3\text{H de l'échantillon entier}} & > & \frac{\text{cpm } ^{35}\text{S de la fraction } <5 \mu\text{m}}{\text{cpm } ^{35}\text{S de l'échantillon entier}} \\
 \updownarrow & & \updownarrow \\
 \frac{\text{assimilation par bactéries } <5 \mu\text{m}}{\text{assimilation par bactéries dans l'échantillon entier}} & > & \frac{\text{assimilation par bactéries } <5 \mu\text{m}}{\text{assimilation par bactéries dans l'échantillon entier + assimilation par les algues}}
 \end{array}$$

Pour la non-assimilation du glucose par les algues, il faudra se rapporter à l'annexe 3-C sur la vérification de l'effet de la lumière sur l'assimilation du glucose.

ANNEXE 3-CVERIFICATION DE L'EFFET DE LA LUMIERE SUR L'ASSIMILATION DU GLUCOSE
(Lac Detcheverry, 10 août 1978)

But: Le but de cette expérience est de vérifier l'influence de la lumière sur l'assimilation du glucose.

Protocole expérimental

Prendre l'échantillon non-filtré (1 litre) et ajouter le ^3H -glucose. Séparer en 3 fioles actives incubées à la noirceur, 3 fioles actives incubées à la lumière et 2 fioles contrôles fixées au Lugol-AcOH, chacune de ces fioles contenant 110 ml d'eau. Après >5 heures d'incubation à la température du milieu échantillonné, fixer les fioles actives. Filtrer chacune des fioles comme ceci: 50 ml directement sur 0.2 ou 0.45 μm et \sim 60 ml sur 3 ou 5 μm et ensuite 50 ml sur 0.2 ou 0.45 μm . On peut ainsi regarder les différences d'assimilation, s'il y a différence, entre le phytoplancton >3 μm et les bactéries <3 μm et ce en lumière et en obscurité.

Résultats et discussion

Avec cette expérience, il ne semble pas que le phytoplancton du lac Detcheverry n'assimile le glucose ni à la lumière ni à l'obscurité car il n'y a qu'un changement non-significatif dans les résultats présentés au tableau 3.3.

Il y a peu de données dans la littérature sur le sujet. McKinley (12) trouve une plus forte assimilation de ^3H -glucose en lumière et l'attribue à la photo-hétérotrophie des algues, c'est-à-dire l'assimilation de composés organiques par les organismes photosynthétiques à la lumière.

Basé sur ses travaux, celui-ci déduit que l'hétérotrophie des bactéries, c'est-à-dire la chemohétérotrophie, est une sous-estimation de l'activité hétérotrophe totale du système: ainsi, sous une base annuelle, il y aurait 2 molécules de glucose assimilé par l'activité photohétérotrophique pour 3 molécules pris par la chemohétérotrophie (bactéries). Azam et Holm-Hansen (2) trouvent que la vitesse d'assimilation du D-³H-glucose est de 30% inférieure à la lumière par rapport à l'obscurité.

A travers ces propos contradictoires, il est rassurant de ne trouver aucune différence significative entre l'incubation à la lumière et à l'obscurité.

ANNEXE 3-D

LINEARITE DE L'ASSIMILATION DU GLUCOSE ET DU SULFATE

(Lac Detcheverry, 29 juin 1978; Réservoir Desaulniers, 17 juillet 1978)

But: Le but de cette expérience est de vérifier le comportement (assimilation) du ^3H -glucose et du $^{35}\text{SO}_4$ en fonction du temps.

Protocole expérimental

Prendre l'échantillon, filtrer (5 μm) \sim 1.7 litre. Au filtrat (1.5 litre) ajouter le ^3H -glucose et le $^{35}\text{SO}_4$ en visant à peu près les concentrations habituelles, c'est-à-dire 0.4 ml de $^{35}\text{SO}_4$ et 0.2 ml de ^3H -glucose par 110 ml. Ajouter d'abord le ^3H -glucose, agiter et enlever \sim 1 ml pour un standard, puis ajouter le $^{35}\text{SO}_4$, agiter, enlever \sim 1 ml pour le standard. Enlever 225 ml et fixer avec le Lugol-AcOH. Incuber les deux échantillons à la température du lac dans l'obscurité (avec agitation). Prendre \sim 210 ml à 5, 10, 15, 20 et 25 hres après le début de l'incubation. Fixer, attendre 1 heure et filtrer 4 x 50 ml sur membrane Sartorius 0.2 ou 0.45 μm , 25 mm. Laver, découper, etc. A la fin de l'expérience, filtrer le contrôle (4 x 50 ml), laver, etc. Doser le SO_4 et le carbone organique.

Résultats et discussionLac Detcheverry (milieu peu productif) 29 juin 1978

L'assimilation du glucose et du sulfate est linéaire pendant 15 heures (figure 3.2 et tableau 3.4). On assiste ensuite à un plateau pendant 5 heures pour recommencer ensuite avec la même pente qu'au début. Il peut donc s'écouler 15 heures entre la collecte de l'échantillon et la fin de l'incubation avant qu'il y ait un changement au sein des micro-organismes.

Réservoir Desaulniers (milieu productif) 17 juillet 1978

A la figure 3.3, la courbe du glucose atteint un plateau après 10 heures d'incubation. L'assimilation du sulfate est presque linéaire pendant 25 heures. Dû à une forte activité microbologique, le glucose est très vite assimilé (tableau 3.4). La question est de savoir si le plateau est atteint après 10 heures ou bien si ce plateau est rapidement atteint après seulement quelques heures et les valeurs à 5 et 10 heures seraient la fin du plateau. Si ce cas s'avérait vrai, les valeurs du rapport {assimilation dans l'échantillon filtré/assimilation de ^3H -glucose dans l'échantillon entier} seraient toujours égales à l'unité à la fin de l'incubation, peu importe la vitesse d'assimilation dans chaque échantillon.

On pourrait remédier à ce fait de 3 façons.

1. En augmentant un peu la concentration ajoutée de ^3H -glucose, par exemple 2 $\mu\text{g/l}$ au lieu de 1 $\mu\text{g/l}$ et en répétant cette expérience.

Il est très important, cependant, de ne pas changer de façon significative la concentration naturelle du glucose. Ces concentrations sont très faibles normalement <10 $\mu\text{g/l}$ (28). Il serait donc intéressant de faire l'étude de l'influence de la variation de la concentration de ^3H -glucose sur la variation de l'assimilation de $^{35}\text{SO}_4$ pour savoir à quelle concentration de ^3H -glucose on changerait la production hétérotrophe. Grâce à ces résultats, on pourrait ajouter une concentration de ^3H -glucose qui ne serait que partiellement assimilée par les bactéries dans les délais demandés par l'expérience.

2. En n'incubant que pendant 2 ou 3 heures, mais les valeurs de sulfate assimilées se rapprocheraient de la limite de détection.
3. En ajoutant le ^3H -glucose 1 ou 2 heures avant la fin de l'incubation. Cette solution est très attirante et ne demande que peu de manipulations.

Donc, les solutions 1 et 3 pourraient facilement résoudre ce problème crucial pour le bon fonctionnement de la méthode en réservoir (production élevée).

L'assimilation du sulfate est presque linéaire pendant les 15 premières heures de l'expérience tout comme dans le lac Detcheverry et permet une utilisation sans embûche pendant ce laps de temps.

Comme conclusion pour cette expérience, disons que si cette méthode est utilisée pour des zones très productives, des tests préliminaires sur la concentration à ajouter en ^3H -glucose devront être sitôt entrepris ou tout du moins n'ajouter le ^3H -glucose qu'à 1 ou 2 heures de la fin de l'incubation.

TABLEAU 2.1: VARIATION DU cpm NET ^3H ET ^{35}S EN FONCTION
DU MODE DE FIXATION
(Lac Hélice, 27 juillet 1978)

DESCRIPTION	cpm net ^3H ± E.S.	cpm net ^{35}S ± E.S.
Filtration immédiate (sans fixation)	2274 ± 91	640 ± 77
Na_2SO_4 (100 g/l)	2390 ± 120	624 ± 12
Lugol-AcOH (1 h)	2045 ± 61	617 ± 9

TABLEAU 2.2: VARIATION DU cpm NET ^3H ET ^{35}S EN FONCTION
DU TEMPS, APRES LA FIXATION AU LUGOL-AcOH
(Lac Hélène, 27 juillet 1978)

DESCRIPTION	cpm net ^3H ± E.S.	cpm net ^{35}S ± E.S.
Filtration immédiate	2274 ± 91	640 ± 77
Filtration après 1 hre	2045 ± 65	617 ± 16
Filtration après 2 h	1780 ± 40	543 ± 21
Filtration après 5½ h	1723 ± 155	547 ± 54
Filtration après 14½ h	1700 ± 34	550 ± 15
Filtration après 25 h	1778 ± 44	643 ± 40

TABLEAU 2.3: VARIATION DU cpm NET ^3H et ^{35}S EN FONCTION DE LA
 FILTRATION AVEC DES MEMBRANES 0.2 μm ET 0.45 μm
 SARTORIUS
 (Lac Detcheverry, 28 juin 1978 et 31 juillet 1978)

Description	cpm net ^3H ± écart-type	cpm net ^{35}S ± écart-type	Temps de filtration (minutes)
<u>Date:</u> 28 juin 1978			
Filtré sur 0.2 μm	375 ± 22 (N=10)	91 ± 5 (N=10)	7
Filtré sur 0.45 μm	424 ± 9 (N=10)	101 ± 10 (N=10)	2
<u>Date:</u> 31 juillet			
Filtré sur 0.2 μm	426 ± 12 (N=10)	79 ± 21 (N=7)	7
Filtré sur 0.45 μm à 250 mm de Hg	427 ± 11 (N=6)	91 ± 19 (N=6)	2
Filtré sur 0.45 μm sous un vide de 100 mm de Hg	433 ± 21 (N=5)	74 ± 10 (N=3)	7

TABLEAU 2.4: VARIATION DU cpm NET ^3H EN FONCTION DU TEMPS
 OÙ LE FILTRE DEMEURE SOUS VIDE
 (Lac Detcheverry, 3 juillet 1978)

Description	cpm net ^3H \pm écart-type
Procédure normale (A + E)	235 \pm 13 (N=8)
Filtre laissé sous vide pendant 10 minutes (B)	234 \pm 15 (N=4)
Filtre laissé sous vide pendant 20 minutes (C)	229 \pm 5 (N=4)
Filtré sous vide pendant 20 minutes + rinçage avec 25 ml de Na_2SO_4 (1 g/l) (D)	186 \pm 19 (N=4)

TABLEAU 3.1: VERIFICATION DE L'EFFICACITE DE LA SEPARATION ENTRE
ALGUES ET BACTERIES PAR FILTRATION SUR MEMBRANE
NUCLEOPORE DE 3 OU 8 μm

Lac Detcheverry - station SB 400 3 août 1978

Description	Concentration en chlorophylle a mg/m^3	Comptage semi-quantitatif Nb.d'ind./100 carreaux	Potentiel autotrophe- (ng C/1-h)
Echantillon entier (non-filtré)	1.07	302	569
Echantillon filtré sur 3 μm	0.37	128	2.1
Rapport filtré/non-filtré	0.35	0.42	0.004

Réservoir Desaulniers - station G2 129 10 août 1978

Echantillon entier (non-filtré)	10.55	905	6125
Echantillon filtré sur 3 μm	-	202	405
Echantillon filtré sur 8 μm	4.62	507	1144
Rapport filtré sur 3 $\mu\text{m}/$ entier	-	0.22	0.07
Rapport filtré sur 8 $\mu\text{m}/$ entier	0.51	0.56	0.18

Lac Béréziuk - station G2 403 5 août 1978

Echantillon entier (non-filtré)	1.36	-	569
Echantillon filtré sur 3 μm	0.39	-	N.D.
Rapport filtré/entier	0.27	-	N.D.

TABLEAU 3.2: VARIATION DU cpm NET ^3H ET ^{35}S EN FONCTION DE LA
SEPARATION ALGUES-BACTERIES AVANT ET APRES INCUBATION

Description	cpm net ^3H ± E.S.	cpm net ^3H de la fraction < 5 μm \div cpm net ^3H de l'échant.entier	cpm net ^{35}S ± E.S.	cpm net ^{35}S de la fraction < 5 μm \div cpm net ^{35}S de l'échant.entier
<u>Lac en Coeur * 1 juin 1978</u>				
Echantillon entier	2109 ± 169	1.00	-	-
Fraction < 5 μm filtrée avant incub.	1167 ± 47	0.55	-	-
Fraction < 5 μm filtrée après incub.	1081 ± 97	0.51	-	-
<u>Reservoir Desaulniers - station G2 129 26 juillet 1978</u>				
Echantillon entier	2422 ± 145	1.00	621 ± 25	1.00
Fraction < 5 μm filtrée avant incub.	2190 ± 88	0.90	423 ± 17	0.68
Fraction < 5 μm filtrée après incub.	1625 ± 49	0.67	316 ± 13	0.51

* Lac situé à ~ 100 km de Québec; études faites au laboratoire de l'INRS-eau.

TABLEAU 3.3: VARIATION DU cpm NET ^3H EN FONCTION DE L'INCUBATION
 A LA LUMIERE OU A L'OBSCURITE
 (Lac Detcheverry, 10 août 1978)

Description	cpm net ^3H \pm E.S.
Fiole incubée à l'obscurité; échantillon non-filtré (entier)	664 \pm 77
Fiole incubée à la lumière(2400 lux) échantillon non-filtré (entier)	643 \pm 107
Fiole incubée à l'obscurité; échantillon filtré	488 \pm 65
Fiole incubée à la lumière(2400 lux) échantillon filtré	478 \pm 78

TABLEAU 3.4: VARIATION DU cpm NET ^3H ET ^{35}S EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION A L'OBSCURITE

Durée (heures) d'incubation	cpm net ^3H \pm E.S.	cpm net ^{35}S \pm E.S.
<u>Lac Detcheverry - station SB 400</u> 29 juin 1978		
5	641 \pm 16	65 \pm 5
10	1242 \pm 50	132 \pm 8
15	1791 \pm 54	189 \pm 15
20	2109 \pm 95	188 \pm 9
25	2988 \pm 120	245 \pm 7
<u>Réservoir Desaulniers - station G2 129</u> 17 juillet 1978		
5	1858 \pm 111	308 \pm 22
12	1927 \pm 77	814 \pm 24
15	1941 \pm 97	1158 \pm 69
20	1914 \pm 57	1689 \pm 42
25	1902 \pm 57	2032 \pm 81

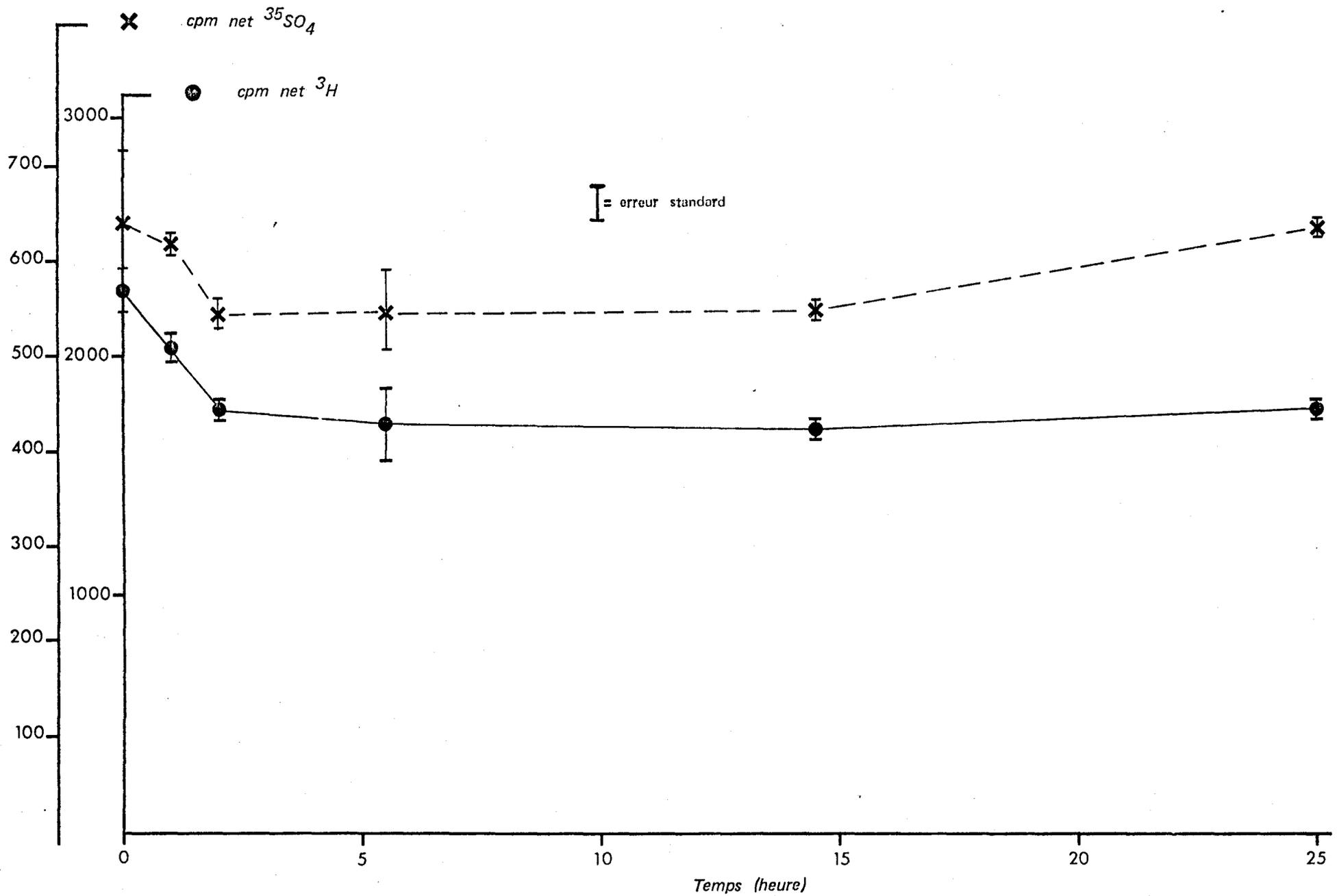


Figure 2.1: Variation du cpm net ^3H et ^{35}S en fonction du temps pour l'échantillon fixé au Lugol-AcOH.

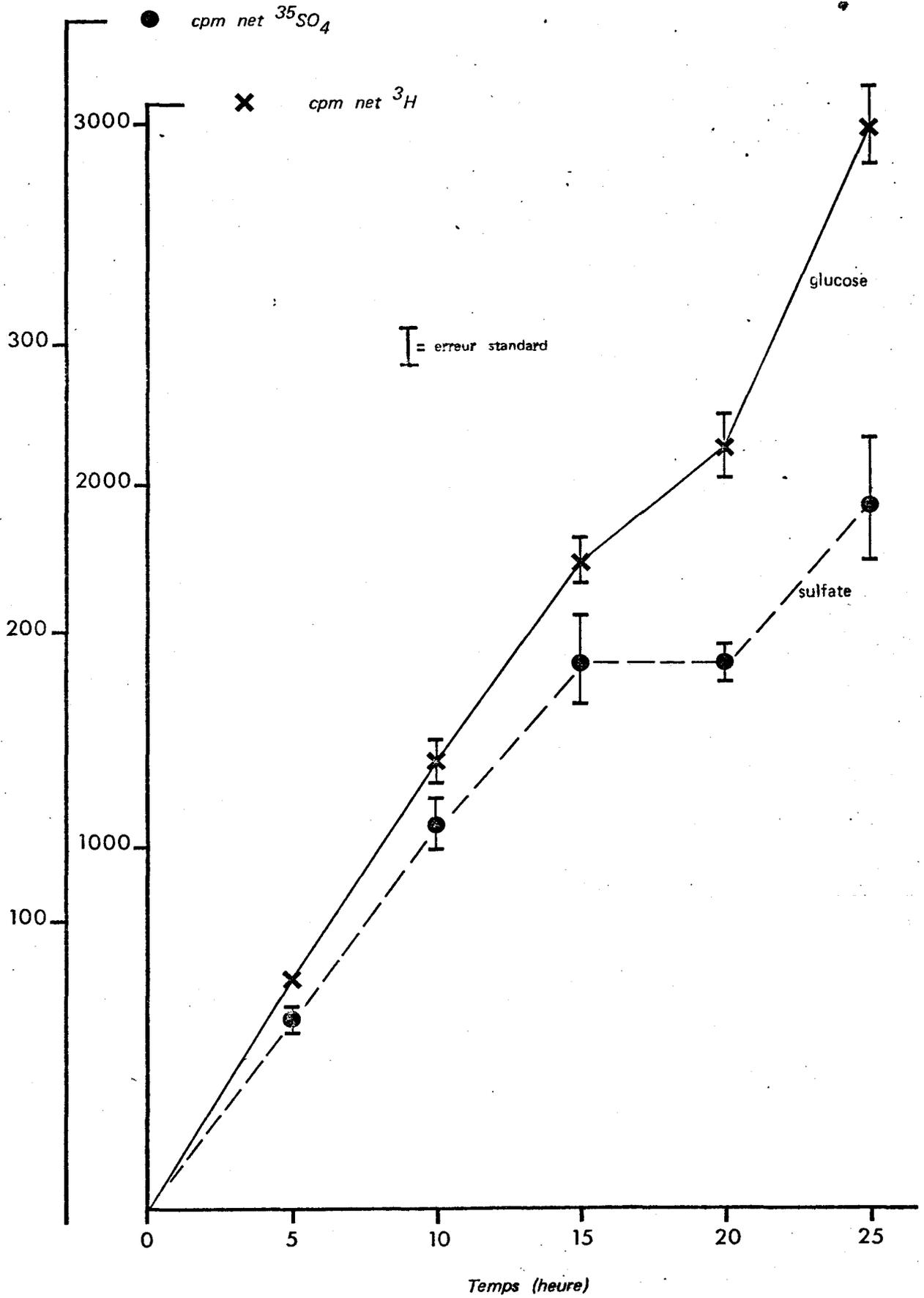


Figure 3.1: Variation du cpm net ^3H et ^{35}S en fonction du temps d'incubation. Station SB 400, lac Detcheverry.

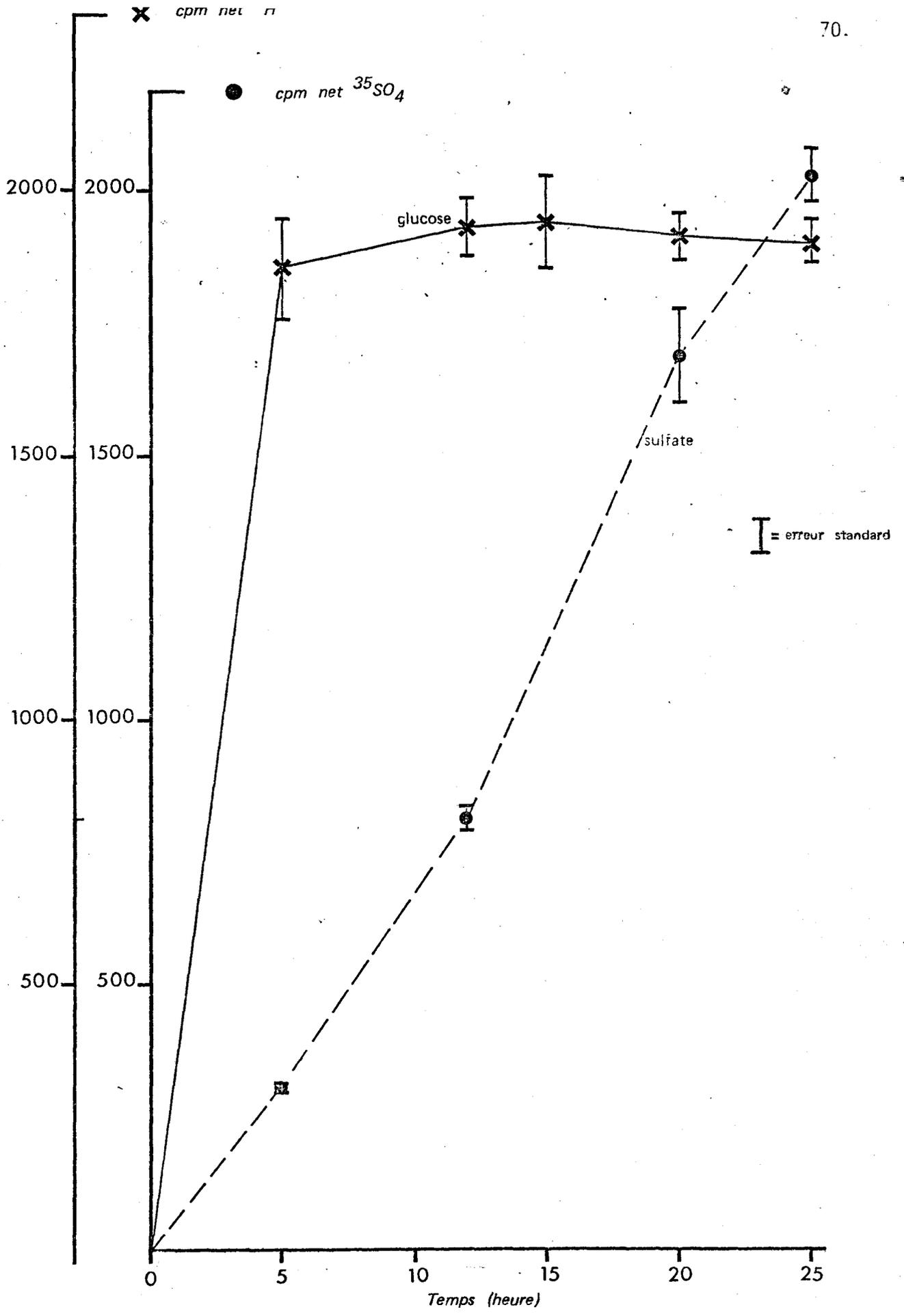


Figure 3.2: Variation du cpm net ³H et ³⁵S en fonction du temps d'incubation. Station G2 129, réservoir Desaulniers.