UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

THÈSE

PRÉSENTÉE À L'INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

COMME EXIGENCE PARTIELLE DU DOCTORAT EN SCIENCES DE L'EAU

PAR

PIERRE BRASSARD

"LA DISPONIBILITÉ DU PHOSPHORE DANS DEUX LACS DU BOUCLIER CANADIEN"

AOÛT 1987

RESUME

Même si les relations empiriques indiquent que la biomasse d'un lac est gouvernée par l'apport initial de phosphore (P) total, il est difficile durant la saison de déterminer la biodisponibilité des différentes formes de P et d'en établir la dynamique parce que ces formes ne font l'objet que d'une classification fonctionnelle par le poids moléculaire. La voie qui apparaît prometteuse est de suivre l'orthophosphate (PO4), une forme facilement biodisponible qui s'échange rapidement entre le seston et le milieu. En outre, sous l'action des phosphatases et des rayons ultraviolets (U.V.), le PO4 est un produit de l'hydrolyse de P organiques naturels. En supposant que le PO4 joue un rôle central dans l'assimilation du P par le seston et que toutes les autres formes de P s'échangent avec lui, l'ensemble de la dynamique du P devrait se déduire de celle du PO_{4} . Cependant, lors d'incubations avec le traceur 32P04, une grande partie du P total (80%) demeure inaccessible au traceur, ce qui le rend difficilement mesurable. Sauf pour le PO4, on ne sait pas si les formes marquées qui restent sont biodisponibles parce qu'on ne peut rigoureusement établir s'il y a ou non équilibre isotopique, condition essentielle d'un échange complet du traceur entre toutes les formes de P. S'il y a vraiment un équilibre isotopique, le P non marqué est réfractaire et alors tous les échanges du traceur avec le 20% résiduel se font en circuit fermé, sans apport extérieur. Autrement le P non marqué est biodisponible et le déséquilibre isotopique résulte d'un

transfert de P de cette source vers le seston, en passant par le PO₄. Il est également possible qu'une partie seulement du P non marqué soit biodisponible et l'autre réfractaire. Il s'agit ici de déterminer si ce P "invisible" est disponible au seston.

De par sa nature même, le P invisible ne se prête pas à l'analyse directe, mais à l'effet qu'il cause sur des mécanismes mesurables. Si le P invisible est biodisponible, un changement dans sa concentration devrait altérer la dynamique du P et, selon la prémisse de départ, changer celle du PO4. De tels effets ont été examinés à l'aide de deux expériences, l'une à court terme (10 min.), l'autre à moyen terme (> 7 jours). Dans les deux cas, le seston d'un lac fut exposé à la matière organique naturelle obtenue par ultrafiltration des eaux du même lac. L'expérience à court terme montre que la vitesse d'incorporation du PO4 est modulée par l'ajout de matière organique. L'expérience à long terme indique cependant que durant la période estivale le phytoplancton subit une baisse de croissance, ce qui indique que la matière organique d'un poids moléculaire apparent (PMA) de 2 X 10³ à 10⁴ n'est pas source de P. Dans cette situation, au moins 80% du P total demeure réfractaire au seston alors que les vitesses d'incorporation du PO4 sont élevées et principalement attribuables aux bactéries. Сев résultats indiquent que malgré les relations empiriques, il existe des périodes durant l'été où la dynamique du PO4 est découplée de l'assimilation nette de P par les algues. A moins d'être perçue comme un gaspillage d'une ressource en P rare, la recirculation vive du PO4 doit servir un but autre que le transport et l'assimilation de P dans la cellule.

ii

Puisque la dynamique du PO4 s'ajuste bien sur un modèle général à trois compartiments, il devrait être possible de prédire la partie des Achanges du P total attribuable au PO4. Mais parce qu'il se limite aux seuls systèmes fermés, le modèle à trois compartiments de Rigler (1974) et de Lean et Nalewajko (1979) ne peut expliquer qu'une partie des quatre types de profils d'incorporation observables. Les raisons qui ont amené un tel choix préalable dans ce modèle sont discutables parce qu'elles impliquent a priori que le PO4 est toujours découplé de l'assimilation nette en P. Même si c'est vrai durant l'été, la disponibilité de P organique, surtout au printemps, ainsi que l'absence d'équilibre isotopique au cours d'incubations avec traceur, suggèrent qu'à d'autre moments une partie du P assimilable passe par le PO4, ce que le modèle fermé ne peut pas couvrir. Un modèle ouvert à deux compartiments peut par contre prédire ce double rôle du PO4 et expliquer les quatre profils de la solution générale par une combinaison de trois mécanismes: l'assimilation nette de P en passant par le PO4, l'échange en circuit fermé ou Quixotic Behaviour (Lean, 1973a), et la compétition algue-bactérie. D'après ce modèle, les profils d'incorporation ne résultent pas principalement d'une limitation en P, mais de l'usage que le seston fait du PO₄.

iii

TABLE DES MATIERES

RESUME	• • •	•	• •	•	٠	٠	٠	•	٠	*	•	•		٠	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	i
TABLE DES MA	FIERES	•		•			•				·	•	·	•	•	•	•				•		•		•	•		iv
LISTE DES TA	BLEAUX	•	• •		•		•		•	÷	•	•	•	•	•	•		•	•	•	÷	•	·		•			vi
LISTE DES FI	GURES	•										•	•	•	•	•	•		•	•	•	•	•	•		·		vii
INTRODUCTION		•	•	• •	•	•	•	•	•	•	•	•		•	•		•			•				•				1
1.1	Le com	npa	rti	me	nt	ir	n v i	si	Ъ]	le	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	3
IFS FFFFTS D	F I A MA	TT	FRI	. 0	RG	ANT	101	IE	NA	лт і	IRF		E	SI	IR													
L'INCORPORAT	ION DU	PO.	4		•	•	•	•	•	•	•	•	•		•	•	•	•	•	•	•	٠	•	•	•	•	•	11
2.1	Intro	luc	tid	on		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	٠	٠	٠	٠	•	11
2.2	Méthod	le (et	ma	té	ria	aus	c	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	13
2.3	Résult	at	8 (et	di	BCI	185	sic	n	•	•	•		•	•	٠	•	•	•	•	•	•		•	•	•	•	19
2.4	Effet	de	14	a r	ét	ent	tic	n	đ١	ı t	ra	ice	eur	٦ د	sui	- 1	lei	в (cv:	[P	•	•	•	•	•	•	•	30

	UNE METHODE Selon le Poi	RAPIDE POU DS MOLECUL	R SE Aire	PARI EN	ER UT	DE	S I IS/	FOF AN7	RMI F I	ES .ES	DI 5 (E I Gei	PH(LS	SI	PHO	DRI	Ξ									
	D'EXCLUSION	ET LA CENT	RIFU	IGAT:	ION	٠	•	٠	٠	٠	•	٠	٠	٠	•	٠	٠	٠	٠	•	٠	٠	•	•	٠	33
2	3.1	Introduct	ion	• •		•	*			•	•	•	•		•	•		٠			•	•	•	•		33
	3.2	Principe	d'op	érai	tio	n	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	٠	•	•	•	•	•	•	•	34
	3.3	Matériaux	• •	•	•••	•	•	•	•	•	•	•	•	٠	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	36
	3.4	Méthode .	• •	•	••	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	37
	3.5	Résultats	• •	• •	•••	•	•	•	٠	•	•	•	•	٠	•	•	٠	•	•	•	•	•	•	•	•	38
	EFFET DE DEU Phosphore da	X FRACTION NS UNE COM	5 OR MUNA	GANI UTE	I Q U N A	ES Tui	SI REI	UR Lle	ר. ב נ	E E	CH/ PH	AN(IY1	GE Fof	DU PL	J AN (CTO	N		•	•	•	•	•	•	•	41
	4.1	Introduct	ion		• •					•		•		•		•		•			·	•	•	•		41
	4.2	Méthodes (et m	atér	ria	ux	٠	٠	•	•	•	•	•	•		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	43
	4.3	Résultats	et	disc	cus	sid	on	•	•	•	•	٠	•	•	•	•	•	٠	•	•	•	•	•	•	•	47
	4.3.1 4.3.2	Fraction : Fraction :	I . II .	• •		÷	•	•	•	•	•	•	:	•	:	:	•	•	•	:	;	:	:	:		47 52
	4.4	Conclusion	n.																					•	•	60
	CONCLUSION .		•••	• •			•	•	•	•	•		•			•								•		62
	PERSPECTIVE.												•		•		•									65
	6.1	Le modèle	éte	ndu										•			÷	•		•		•	•			70
	6.2	Conclusion	n.	• •	•	•	·	•		·	•	•	•	•		•		×	•	•		•	•			77
	REFERENCES .																				•					7 9

LISTE DES TABLEAUX

.

.

TABLEAU	1.1.	Grandeur relative du compartiment invisible requis dans la phase soluble pour atteindre l'équilibre isotopique
TABLEAU	2.1.	Caractéristiques limnologiques du lac Tantarie
TABLEAU	2.2.	Poids moléculaires apparents et paramètres de régression log-linéaire pour les expériences nº 2, nº 3 et nº 4
TABLEAU	4.1.	Contenu des fractions I et II avant la concentration
TABLEAU	4.2.	Activité des phosphatases solubles et particulaires selon la régression de la phosphatase soluble ajoutée au jour zéro

LISTE DES FIGURES

đ

FIGURE	1.1. c	Simulation numérique des profils d'incorporation du PO4 selon la lassification de Lean et Nalewajko (1979)
FIGURE	2.1.	Protocole de filtration utilisé pour les expériences nº 2, nº 3, et nº 4
FIGURE	2.2.	Profils d'incorporation du PO ₄ de l'expérience nº l
FIGURE	2.3.	Interprétation du profil d'incorporation du PO ₄
FIGURE	3.1.	Coupe de l'extracteur
FIGURE	3.2.	Profils d'extraction pour les grand et petit poids moléculaires
FIGURE	4.1.	Effet de la fraction I (104 < PMA < 105) au lac Tantarie
FIGURE	4.2.	Effet de la fraction I (104 < PMA < 105) au lac Laflamme
FIGURE	4.3.	Effet de la fraction II (2 X 10^3 < PMA < 10^4) au lac Tantarie en juin 1982
FIGURE	4.4.	Effet de la fraction II (2 X 10^3 < PMA < 10^4) au lac Tantarie en juillet 1982
FIGURE	4.5.	Effet de la fraction II (2 X 10^3 < PMA < 10^4) au lac Laflamme
FIGURE	6.1.	Les trois transitions
FIGURE	6.2.	Arrangements pour un système ouvert à deux compartiments dont la solution est le type 1.5



INTRODUCTION

L'observation de relations empiriques entre le P total au retournement printanier et la valeur moyenne de chlorophylle-a (chl-a) durant l'été indique que, généralement, la biomasse algale d'un lac est gouvernée par un apport initial en P (Dillon et Rigler, 1974). Cependant l'identification des différentes formes de P, leurs concentrations et leurs biodisponibilités respectives, n'ont pas été établies et constituent un obstacle majeur pour comprendre la dynamique du P dans les eaux naturelles. En général, les méthodes chimiques surestiment le PO₄ en hydrolysant une partie du P organique (Stainton, 1980). Rigler (1956, 1966, 1968) a montré que la méthode chimique du bleu de molybdène surestime la concentration en PO₄ par au moins un ordre de magnitude. De plus, en enlevant le P à haut poids moléculaire, la détermination du P residuel (on présume le PO₄) demeure encore trop élevée (White <u>et al.</u>, 1981).

En ce qui concerne les autres formes de P, les plus communes sont les pyrophosphates, les polyphosphates, et les esters organiques de ceux-ci, généralement appelés "P organique" (Cembella <u>et al.</u> 1984a, 1984b). Ces derniers couvrent une grande étendue en poids moléculaire et le substrat organique peut être humique ou fulvique (Stewart, 1984). Des composés

organiques à faible poids sont également présents et résultent de l'excrétion algale (Lean et Nalewajko, 1976).

Il est difficile de cerner la biodisponibilité du P organique car la seule espèce de P dont il est possible de suivre le transfert dans les différents compartiments biotiques et abiotiques du seston est le PO4. Des expériences avec traceur montrent que celui-ci est rapidement pris en charge par les algues (Nalewajko et Lean, 1978) et les bactéries (Medveczky et Rosenberg, 1971), ces dernières étant plus efficaces aux faibles concentrations de PO4. A peu d'exceptions près (Rubin et al., 1977), le P organique ne semble pas directement disponible au seston mais doit plutôt être dégradé en PO4, soit sous l'action des rayons U.V. (Francko et Heath, 1983), soit par des enzymes tels les phytases (Herbes <u>et al.,</u> 1975) ou les phosphatases (Petterson, 1980, Jansson et al., 1981). En Nouvelle-Zélande, des bioessais avec Chlorella ont montré la biodisponibilité de P à haut poids moléculaire et de P à faible poids semblable au PO4 (White et Payne, 1980). En se basant sur l'étude de Lean (1973a, b) où le P est échangé entre le PO4 et d'autres formes de P, Peters (1978, 1981) a proposé d'estimer la biodisponibilité de chacune en fonction de son activité spécifique. Cette approche est valable en autant que, d'une part, le PO4 et les autres formes de P fassent partie d'un système fermé et que, d'autre part, ce système représente toutes les formes de P potentiellement disponibles.

1.1 Le compartiment invisible

Pour suivre le transfert du PO4 vers le seston, on injecte le traceur dans un réacteur contenant une eau naturelle. Puis, périodiquement, on retire des aliquotes qu'on filtre sur une membrane de 0,45 µm. L'activité résiduelle dans le filtrat est ensuite portée sur l'ordonnée d'un graphique avec le temps en abscisse. Il en résulte un profil d'incorporation du P qui exprime la façon dont le seston échange le PO_4 avec le milieu (Rigler. La première partie du profil suit presque toujours une droite 1966). log-linéaire dont la pente constitue une approximation de la vitesse relative d'entrée du 32PO4 dans le seston. Cette pente est appelée <u>phosphorus uptake rate constant</u>, qui est traduit ici par <u>constante de</u> vitesse d'incorporation du phosphore (CVIP). La seconde partie du profil peut demeurer rectiligne ou encore présenter une ou deux inflexions (fig. 1.1). Malgré qu'il soit possible de générer des profils diphasiques sans avoir nécessairement recours aux modèles fermés (Riggs, 1963), la classification fonctionnelle de Lean et Nalewajko (1979) en profil de types I, II, et III est basée uniquement sur l'utilisation d'un modèle général fermé à trois compartiments. Cette restriction découle de l'observation que la majorité des profils présentent une asymptote, ce qui peut indiquer un système d'échange fermé ayant atteint l'équilibre isotopique.





Cependant, Levine et Schindler (1980) ont mesuré l'équilibre isotopique dans deux lacs du Bouclier Canadien en incubant le traceur dans des limnocoraux. Le premier lac était oligotrophe, tandis que le second avait été artificiellement eutrophisé avec des ajouts réguliers en P, en carbone (C) et en azote (N). Après plusieurs jours d'incubation en présence de ³²PO₄, on filtra l'eau du lac. Les fractions solubles et particulaires furent ensuite évaluées. Dans tous les cas, la fraction particulaire accusait une activité spécifique beaucoup plus élevée que la fraction soluble. Cependant, ce déséquilibre ne pouvait pas être causé par un transfert du traceur de la phase soluble vers la phase particulaire, parce que la presque totalité du traceur en solution était le "P-colloīdal" de Lean (1973a), une forme peu disponible (Lean et Rigler, 1974).

Pour tenir compte de cette situation, la proposition de Levine (1976) semble plus adéquate: le déséquilibre isotopique indique la présence d'un autre compartiment de nature colloïdale, distinct du P colloïdal. Suivant l'idée de Chamberlain (voir Rigler, 1974), ce compartiment est une source de P, ou est complètement réfractaire. Dans les deux cas, le traceur ne perfusera pas un compartiment qui demeure inaccessible au traceur, alors que l'activité spécifique de la fraction soluble s'en trouvera diminuée. Pour cette raison, ce compartiment est qualifié ici d'"invisible".

Il y a donc trois possibilités pouvant expliquer le déséquilibre isotopique: l) le système d'échange est fermé avec un compartiment de P invisible et réfractaire au seston; 2) le système est ouvert avec un compartiment de P invisible et biodisponible au seston; 3) le système est ouvert avec un compartiment de P invisible et partiellement biodisponible.

En fait, le système ne peut à la rigueur être fermé que si le compartiment invisible est totalement réfractaire.

Il reste donc à déterminer sous quelles conditions le système doit être ouvert ou fermé. Les deux options semblent également possibles dans les eaux naturelles étant donné qu'il existe des formes de P disponibles au seston (Paerl et Downes, 1978), alors que d'autres le sont peu ou pas du tout (White <u>et al.</u>, 1981). Cette ambiguïté entre le système ouvert ou fermé ne résulte pas d'un cas isolé puisque Peters (1979) a rapporté des profils de type II (système fermé) alors que l'équilibre isotopique n'était pas atteint. Il en va de même pour les études antérieures faites avec traceurs sur des lacs entiers (Rigler, 1974). En fait, il n'y a pas de cas rapporté où l'on a pu observer un équilibre isotopique en utilisant le traceur ³²PO₄ dans les eaux naturelles.

Il est possible d'estimer la taille relative du compartiment invisible en utilisant les résultats de Levine et Schindler (1980). Ce calcul débute avec la définition de l'activité spécifique d'un système à l'équilibre isotopique alors que tous les compartiments sont également perfusés par le traceur. Dans ce cas, la fraction soluble présente la même activité spécifique que la fraction particulaire. Ainsi, on peut écrire:

$$S_{fo} = S_r = \frac{f^*}{f}$$
(1)

 f^* = activité de ³²P dans le filtrat (nCi)

f = quantité de P biodisponible dans le filtrat (µg)

7

- S_{fo} = activité spécifique du filtrat, sans compartiment invisible
- S_{Γ} = activité spécifique de la fraction particulaire (rétentat) (nCi/µg)

Par contre, si un compartiment invisible existe dans le filtrat, alors l'activité du filtrat est moindre que celle de la fraction particulaire parce qu'une partie du filtrat devient inaccessible au traceur. Il faut alors écrire:

$$S_{fa} = \frac{f^*}{f + a}$$
(2)

où:

où:

 a = quantité de P dans le compartiment invisible (µg)
S_{fa} = activité spécifique du filtrat avec un compartiment invisible de taille a

La taille relative du compartiment invisible est maintenant définie comme suit:

$$C = \frac{a}{a+f}$$
(3)

où:

= fraction du P dans le compartiment invisible par rapport au P total du filtrat

En combinant les équations 1 et 2 :

C

$$S_{r} - S_{fa} = f^{*} - f^{*} - \frac{1}{a+f}$$
 (4)

$$S_{r} - S_{fa} = \frac{f^{\star}}{f} \frac{a}{a+f}$$
(5)

Puis, avec les équations 1, 4 et 5 :

$$C = \frac{(S_r - S_{fa})}{S_r}$$
(6)

Dans le tableau l.l sont montrées les valeurs de C pour les différents résultats de Levine et Schindler (1980). Cette analyse montre que si le déséquilibre isotopique était causé par un compartiment non marqué, celui-ci devrait alors constituer 80% du phosphore soluble en moyenne.

TABLEAU 1.1. Grandeur relative du compartiment invisible requis dans la phase soluble pour atteindre l'équilibre isotopique. Les calculs ont été faits à partir des données de Levine et Schindler (1980).

		Activité	spécifique	Taille relative du compartiment invisible
		Rétentat	Filtrat	
Lac	Date	S _r (nCi/µg)	Sfa (nCi/µg)	С (%)
227	1973/6/7 1973/7/9 1973/8/7	71,58 3,38 1,63	0,592 0,368 0,188	92 89 88
302 S	1973/6/6 1973/7/16	27,8 34,3	5,73 7,73	77 77

Cette valeur est très élevée et indique que le traceur ne permet de voir qu'une faible partie de la dynamique du P. L'hypothèse de Peters (1978, 1979, 1981) veut que si le PO₄ est hautement biodisponible, toute

fraction qui s'échange avec lui l'est aussi. Mais l'activité de chaque fraction est une mesure de sa biodisponibilité en autant que l'équilibre isotopique est atteint; une condition difficilement vérifiable dont on présume l'existence. Si l'équilibre n'existe pas, l'activité des fractions devient une mesure non pas de leur biodisponibilité, mais de l'accumulation du traceur dans des compartiments réfractaires. La mesure de l'activité spécifique d'une fraction n'est donc pas suffisante pour en déterminer la biodisponibilité.

Le but ici est d'évaluer la biodisponibilité du compartiment invisible en tant que source de P. De par sa nature même, celui-ci ne peut pas être marqué et ses propriétés devront être inférées par l'effet qu'il cause sur des mécanismes mesurables. En supposant que la partie biodisponible du compartiment est éventuellement convertie en PO4 et que de faibles variations de la teneur en PO4 causent un changement immédiat sur les CVIP (Rigler, 1966), la présence de P biodisponible devient décelable. Le deuxième chapitre expose cette approche (Brassard et Auclair, 1984a) en examinant les effets produits sur les CVIP lorsqu'on augmente une à une la concentration de plusieurs fractions de P naturel. La difficulté rencontrée ici est de pouvoir déterminer si le changement des CVIP est bien causé par la fraction de P ajoutée et non pas par un artefact de filtration résultant de l'adsorption abiotique du traceur sur un composé colloīdal (Lean, 1973a). Le troisième chapitre présente donc une méthode pour vérifier rapidement si le traceur demeure sous la forme PO4 durant le cours de l'incubation (Brassard et Auclair, 1984b).

Le quatrième chapitre examine les effets à long terme du compartiment invisible qui, en tant que source de P, devrait produire une

augmentation de la biomasse algale. Durant cette expérience, les fractions naturelles sont injectées dans des sacs <u>in situ</u> pour une période de deux semaines. La conversion du P organique en PO₄ à partir du compartiment invisible et son assimilation dans le seston sont suivies en mesurant la CVIP, l'activité des phosphatases, et la chl-a (Auclair <u>et al.</u>, 1985).

LES EFFETS DE LA MATIERE ORGANIQUE NATURELLE

SUR L'INCORPORATION DU PO4

2.1 Introduction

Bien que l'on puisse prédire les concentrations estivales de chl-a à partir des valeurs de P total (Dillon et Rigler, 1974), très peu d'information existe sur la disponibilité des différentes fractions opérationelles du P total. On sait cependant que le P est échangé entre plusieurs compartiments et on a une idée du poids moléculaire de chaque compartiment ainsi que des flux relatifs d'échange entre eux (Lean, 1973a, b). Cependant, bien d'autres aspects de la dynamique du P demeurent une énigme. Par exemple, on a trouvé dans des lacs de Nouvelle-Zélande un P de haut poids moléculaire qui n'était pas toujours disponible au seston et qui ne donnait pas toujours un rendement de biomasse comparable à celui du P04 (Paerl et Downes, 1978; White et Payne, 1980). On peut avancer que l'utilisation incomplète de ce P résulte d'une induction trop lente des phosphatases parce que les taux de division cellulaire sont de beaucoup moindre en milieu naturel (0,5 à l jour-l) qu'en culture de laboratoire

(> l jour-l). Il est également possible qu'une partie de ce P soit complètement réfractaire à la matière vivante.

Dans plusieurs lacs canadiens souffrant d'une carence extrême en P, on observe des profils d'incorporation du PO₄ qui s'ajustent sur une équation à deux termes exponentiels (profil diphasique). C'est dans ces conditions que le P colloīdal est marqué le plus rapidement (Lean et Nalewajko, 1979), et que ce produit n'est presque pas disponible au seston (Lean, 1973a, b). Cependant, lors d'incubations de 7 jours dans des limnocoraux de lacs du Bouclier Canadien, l'équilibre isotopique n'a jamais pu être atteint, que ce soit en condition oligotrophe ou eutrophe (Levine et Schindler, 1980). Ceci indique que le traceur ne marque pas tous les compartiments. Il est donc possible qu'il y ait une relation entre le temps requis pour marquer le P colloīdal (et donc pour atteindre l'équilibre isotopique) et la présence dans le milieu d'un composé de P disponible au seston, mais non marqué.

L'expérience de Levine et Schindler (1980) a également montré que telle que mesurée selon le bio-essai de Rigler (1966), la concentration en PO4 demeurait invariable et sensiblement la même durant la période estivale, et ce, pour deux lacs dont la teneur en chlorophylle différait par près de 3X (Levine, 1976). Les auteurs conclurent que le PO4 était un bien faible indicateur de l'état trophique d'un lac. De plus, seul le phosphore total dissout (PTD) se trouvait en corrélation avec le P particulaire, impliquant qu'une source importante de P pour le seston provenait du PTD. Ce raisonnement est appuyé par le découplage temporel bien connu entre incorporation et croissance, surtout lorsque le phytoplancton est soumis à

une diète en P (Lean et Nalewajko, 1976; Nalewajko et Lean, 1978; Rhee, 1973; Gotham et Rhee, 1981), et aussi lorsque l'on sait que le radio-bioessai mesure le flux de PO₄ sur une échelle de temps qui est considérablement plus petite (typiquement l heure) que le taux de renouvellement chez le phytoplancton et les bactéries (typiquement 24 heures).

Il est possible que le flux du PO4 ne témoigne que d'une partie de la totalité des flux nutritifs importants pour la cellule. On peut ajouter comme corollaire que la concentration de PO4 est la résultante de processus biologiques plutôt qu'une variable de contrôle. Si on suppose qu'en plus du PO4, le phytoplancton hydrolyse et assimile également des composés à faible poids moléculaire, alors il est possible d'affecter le cycle du P en modifiant la concentration de ceux-ci. Nous avons donc testé l'hypothèse que le cycle du P tel que mesuré par l'incorporation du PO4 peut être altéré par des composés de P à faible poids moléculaire présents dans les eaux naturelles. Nous présentons ici une série d'expériences utilisant le fractionnement par poids moléculaire des eaux naturelles. Ces fractions furent ensuite exposées au seston naturel et les CVIP furent mesurées. Des expériences furent également menées pour savoir si ces variations n'étaient pas causées par une adsorption abiotique ou encore par complexation.

2.2 Méthodes et matériaux

Toutes les expériences ont été menées à partir des eaux du lac Tantarie, un lac du Bouclier Canadien, acide et oligotrophe. Le lac Tantarie est situé à 47° 04' N par 71° 33' 0, à 42 km au nord de la ville de Québec. Les caractéristiques limnologiques sont présentées au tableau 2.1. Au cours de nos expériences, la communauté de phytoplancton était dominée en

août par les algues bleu-vert Merismopedia tenuissima et par Microcystis En octobre, les espèces dominantes étaient Chrysococcus sp. et SP. Chromulina sp., deux chrysophycées. L'incorporation du 32P04 par le seston a été suivie par filtration successive sur Millipore 0,45 µm et en mesurant l'activité du filtrat. Puisque dans la plupart des expériences on ajoutait 25 mL de concentrat à 200 mL de seston naturel, l'expérience nº l a été menée pour s'assurer que l'on pouvait utiliser 25 mL d'eau purifiée et déionisée (Millipore Milli-Q3RO/Milli-O2) comme témoin aussi bien que 25 mL d'eau du lac filtrée (ELF). Pour ce faire, la CVIP d'un seston naturel intact a été comparée à celle d'un seston progressivement dilué avec des ajouts combinés selon les proportions 2:0, 1:1 et 0:2 (ELF: eau Millipore). Après avoir injecté le PO $_4$ dans le seston, des aliquotes de 5 mL furent filtrées et rincées avec 10 mL d'eau Millipore contenant 10 µM de PO4 non marqué ("froid"). L'activité des filtrats a été mesurée ensuite par scintillation liquide (LKB Rackbeta) en utilisant la méthode Cerenkov (32P)ou en émulsion avec Aquasol (33P).

L'expérience nº 2 a été menée pour mesurer l'effet de deux fractions sur l'incorporation du PO₄. Celles-ci furent obtenues par ultrafiltration de façon à obtenir une première fraction où les composés avaient un PMA plus grand que 50 000 et une seconde avec un PMA plus petit que 50 000. Ces fractions furent obtenues en suivant les recommandations de Buffle <u>et al</u>. (1978, 1982) ainsi que de Buffle et Deladoey (1982). La procédure se fit sans électrolyte de support afin de ne pas altérer certaines formes de P labiles.

Elévation (m)	500
Précipitation (cm)	145
Surface (km ²)	1,33
Surface du bassin (km²)	12,1
Profondeur maximum (m)	21,0
Conductivité (µS.cm ⁻¹)	18,0
pH	5,1
Alcalinité (mg C.1-1)	<0,2
pH eau de pluie	4,2
Ca (mg.1-1)	1,5
Mg (mg. 1-1)	0,2
K (mg.1-1)	0,3
Na (mg.1-1)	0,5
Fe (mg.1-1)	0,04
Mn (mg.1-1)	0,04
Al (mg.1-1)	0,22
Cl (mg.1-1)	0,3
$S0_4 (mg.1-1)$	5,7
$NO_3 + NO_7 (mg. 1^{-1})$	0,53
Couleur (Unités Hazen)	5,0
Chl-a (µg.1-1)	0,2-2

TABLEAU 2.1. Caractéristiques limnologiques du lac Tantarie.

La procédure d'ultrafiltration (fig. 2.1) s'est déroulée comme suit: nous avons récolté l'eau du lac le 3 août 1981 et, en moins de 2 heures, l'eau fut filtrée sur 0,45 μ m (HAWP, Millipore) en changeant plusieurs fois de filtre afin d'éviter le colmatage (fig. 2.1). Le filtrat de 800 mL obtenu fut ensuite divisé en deux parties de 400 mL. La première fraction (T) fut évaporée sous vide (Buchi, Roto-vapor-R) jusqu'à 25 mL et conservée. La seconde fut soumise à l'ultrafiltration "thin-Channel" (Amicon) en utilisant une membrane XM50 et arrêtée lorsque le volume du rétentat atteignit 25 mL. Cette fraction (I) fut conservée (PMA >50 000).



FIGURE 2.1. Protocole de filtration utilisé pour les expériences n° 2, n° 3, et n° 4. M = Millipore 0,45 µm; N = Nuclepore 0,4 µm (n°3), 0,2 µm (n°4). Les triangles correspondent aux unités d'ultrafiltration et le numéro à l'intérieur identifie le type de membrane utilisée. Les fractions (I-IV) furent évaporées sous vide (RE) ou ultraconcentrées (FC). Toutes les fractions furent amenées à un facteur de concentration de 16X.

A son tour, le filtrat fut évaporé jusqu'à 25 mL, constituant ainsi la troisième et dernière fraction (II) (PMA <50 000). Nous avons ensuite mélangé chacune de ces trois fractions à 200 mL d'eau naturelle prise le 6 août 1981. Un mélange de 200 mL d'eau naturelle avec 25 mL d'eau pure (Millipore) nous servit de témoin. Pas plus de deux minutes après le mélange, les réacteurs reçurent une injection du traceur PO₄ qui avait été filtré au préalable sur un filtre Millipore de 0,22 μ m afin de retirer toute trace de P polymérisé. Pour chaque réacteur, des aliquotes de 5 mL furent prélevées, filtrées et comptées à 0, 2, 4, 6 et 8 minutes suivant l'injection initiale du traceur. La CVIP fut calculée selon la régression log-linéaire des résultats.

La procédure pour l'expérience n° 3 fut semblable à l'expérience n° 2, sauf que la récolte de l'eau du lac se fit le l3 août 1981 et la première filtration sur 0,4 µm Nuclepore. La procédure d'ultrafiltation fut cependant plus élaborée et nécessita deux membranes (XM 100 et PM 10). Comme auparavant, la matière organique retenue par la membrane fut concentrée directement à l'interface, tandis que la concentration du filtrat se faisait par évaporation sous vide. Quatre fractions furent ainsi obtenues (fig. 2.1): la fraction I, contenant la matière organique (MO) excédant 10⁵ PMA; la fraction II, PMA < 10⁵; la fraction III, 10⁵ > PMA > 10⁴; et la fraction IV, PMA < 10⁴. Une cinquième fraction (T) fut obtenue en évaporant une partie du filtrat provenant de la première filtration sur 0,4 µm. Selon ce protocole de séparation, et en supposant qu'il n'y a pas eu de pertes au cours de la procédure, la concentration de P04 devait être égale à celle de l'eau du lac dans les fractions I et III, tandis que les fractions T, II et IV devaient en contenir 16X plus. Les fractions furent

respectivement mélangées avec 200 mL de seston naturel prélevé au lac le 14 août 1981 et les mesures de CVIP se firent comme nous l'avons décrit plus haut.

L'expérience n° 4 fut semblable à l'expérience n° 3, sauf que la première filtration se fit sur Nuclepore 0,2 µm. Une membrane supplémentaire (UM 05) fut utilisée lors de l'ultrafiltration de façon à séparer la fraction IV en deux, donnant ainsi la fraction V (104 > PMA > 5 x 102) et la fraction VI (PMA < 5 x 10²). Dans tous les cas, l'ultrafiltration se fit sur système Amicon en utilisant un système "thin-Channel" pour les membranes XM 50, XM 100 et PM 10, et un système "stirred cell" pour la membrane UM 05.

L'expérience nº 5 a été menée afin de vérifier s'il y avait dans le filtrat une adsorption abiotique du 32PO4 au cours d'une période de 30 minutes. De l'eau du lac, récoltée le 18 août, fut filtrée sur 0,4 µm Nuclepore et séparée en deux portions de 8 mL. La première portion reçu 1% de formaldéhyde, tandis que la seconde agissait comme témoin. Après une filtration préalable sur 0,22 µm, le radiophosphore 32P04 fut ajouté et. après une incubation de 30 minutes, chaque portion de 8 mL subdivisée en trois fractions de 2 mL: la première pour mesurer l'activité total du traceur, la seconde pour la chromatographie et la troisième à être refiltrée sur 0,45 µm Millipore afin d'obtenir une partie des composés P colloīdaux retenus par la filtration. La chromatographie se fit par centrifugation dans des tubes spécialement conçu pour contenir une matrice d'exclusion moléculaire (Sephadex G-25). La méthode est décrite en détail par Brassard et Auclair (1984b) (voir chap. 3). Bien que cette procédure ne puisse distinguer que le PO4 et le P colloïdal, son avantage réside dans la

rapidité d'analyse puisque 4 échantillons peuvent être traités en moins de 30 minutes. C'est un gain de temps considérable sur la chromatographie conventionnelle qui traite l échantillon en moins de 40 minutes, mais qui est beaucoup plus précise.

Dans l'expérience n° 6, nous avons vérifié si la fraction V pouvait retenir le radiotraceur. Nous avions déjà observé que l'ajout de la fraction V à l'ELF augmentait le temps de filtration, ce que Lean (1973a) a aussi rapporté avec la fraction colloïdale. Nous avons donc supposé que si cette fraction adsorbait le traceur, celui-ci s'en trouverait davantage retenu sur le filtre. Deux aliquotes (45 mL) d'eau du lac furent placées dans deux béchers en polycarbonate (pour minimiser l'adsorption sur les parois). Le premier fut traité avec 2,5 mL de formaldéhyde alors que le second ne fut pas traité. On injecta ensuite dans les deux béchers 5 mL de la fraction V, soit l'équivalent de 2,5X la concentration naturelle. L'injection du 32 PO4 préfiltré sur 0,22 µm suivit dans les deux minutes. L'activité du filtrat fut comptée à 0, 2, 4, 6 et 8 minutes et les CVIP calculées.

2.3 Résultats et discussion

En supposant que durant les quelques 10 minutes de mesure il n'y ait pas eu de nouveaux sites de transports fabriqués par les cellules, il est important d'établir que les CVIP reflètent l'incorporation du PO₄ sur la cellule sans être faussé par le relâche de P colloïdal ou de PO₄ marqués, ou encore par une adsorption abiotique du traceur. Ces suppositions sont implicites chaque fois que les profils d'incorporation du P sont ajustés sur une relation log-linéaire.



FIGURE 2.2. Profils d'incorporation du PO4 de l'expérience nº l. Afin de vérifier la fiabilité des témoins, 4 réacteurs furent remplis avec d'fférentes proportions d'eau du lac, d'eau du lac filtrée, et d'eau "Q" cullipore, selon le tableau çi-dessous:

Eau du lac (mL)	Eau du lac filtrée (mL)	Eau "Q" Millipore (mL)
100	200	0
100	100	100
100	0	200
300	0	0
	Eau du lac (mL) 100 100 100 300	Eau du lac Eau du lac (mL) 100 100 100 100 100 100 100 0 300 0

Dans la section 2.4 nous démontrons que la réponse log-linéaire des profils d'incorporation ne peut exister s'il existe une adsorption significative du traceur par des composés colloïdaux. Dans les expériences nº 5 et 6 nous montrons que l'adsorption abiotique du traceur n'est pas importante durant les mesures d'incorporation. L'objectif est de s'assurer que les variations des constantes d'incorporation sont causées par l'effet de nos fractions sur l'incorporation du PO4 et non pas dues à un artefact expérimental.

Dans l'expérience nº 1, les constantes d'incorporation du PO4 demeurent les mêmes lorsque l'eau du lac est diluée avec l'ELF ou avec l'eau Millipore (fig. 2.2). En effet, une concentration plus forte de PO4 dans l'ELF par rapport à l'eau Millipore aurait entraîné une diminution de la CVIP. La similitude entre les mesures faites avec l'eau Millipore et l'ELF suggère que l'eau Millipore pouvait être utilisée comme témoin dans les autres expériences. De plus, le rapport entre les pentes des échantillons dilués et non-dilués suit parfaitement les facteurs de dilution de l partie d'eau du lac pour 2 parties d'ELF ou d'eau Millipore. Ces résultats suggèrent que dans ce cas particulier, les profils d'incorporation du traceur suivent une relation log-linéaire uniquement dépendante du nombre de sites de transport.

Au cours des expériences subséquentes tous les mélanges furent faits à partir d'une même concentration de seston naturel de sorte que le nombre de sites demeura constant. En conséquence, tout changement de la CVIP indique un changement dans la concentration de PO4 ou dans les vitesses de transport.



FIGURE 2.3. Interprétation du profil d'incorporation du PO₄. La CVIP d'un réacteur témoin (C) où on a ajouté l'eau "Q" Millipore est comparée à l'ajout des fractions à l'étude. Les CVIP peuvent augmenter (I) dans le cas d'une diminution du compartiment PO₄ ou encore parce que la fraction ajoutée accroit la vitesse d'incorporation. La CVIP peut diminuer (D) lorsque le compartiment PO₄ augmente ou lorsque la fraction inhibe l'incorporation.

Par rapport au témoin, une augmentation de pente chez les mélanges traités indiquent soit une diminution de la concentration de PO₄, augmentant ainsi l'activité spécifique, soit une incorporation accrue de P dans les cellules. Par contre, une diminution de pente peut être interprétée soit comme une dilution du traceur par l'augmentation du PO₄, soit par l'inhibition de l'incorporation du phosphore dans la cellule (fig. 2.3).

Dans l'expérience nº 2, l'effet des fractions T, I et II sur l'eau du lac est comparé avec un témoin d'eau Millipore (tableau 2.2): en présence de la fraction T, l'incorporation du traceur est réduite, tandis que l'ajout des fractions I et II entraine une augmentation de l'incorporation du traceur.

TABLEAU 2.2. Poids moléculaires apparents et paramètres de régression log-linéaire pour les expériences n° 2, n° 3 et n° 4. *, P < 0,05; **, P < 0,01; NS, Non Significatif. Y₀, Activité initiale.

		Fractions					
Exp.	Date	PMA	no	CVIP	Yo	r ²	t
2	81/08/06	PMA < 0,45μm	т	0,065	96,3	0,963	**
	PMA > 5X1	04	I	0,166	92,9	0,997	**
	PMA < 5X1	04	II	0,165	86,3	0,994	*
	Témoin		С	0,125	91,6	0,995	-
3	81/08/14	PMA < 0,4 μ m	Т	0,022	96,5	0,979	**
	PMA > 105		I	0,169	92,2	0,998	NS
	PMA < 105		II	0,227	85,8	0,993	**
	104 < PMA	< 105	III	0,175	91,3	0,994	NS
	PMA < 104		IV	0,133	90,3	0,999	NS
	Témoin		С	0,150	85,4	0,996	-
4	81/10/24	$PMA < 0,2\mu m$	Т	0,023	97,8	0,867	**
	PMA > 105		Ĩ	0,067	94,3	0,999	NS
	PMA < 105		II	0,069	95,0	0,994	NS
	$10^4 < PMA$	< 10 ⁵	III	0,077	97,8	0,997	NS
	PMA < 104		IV	0,072	97,3	0,997	NS
	104 < PMA	< 51102	V	0,102	99,9	0,994	**
	PMA < 5X1	02	VI	0,075	97,0	0,996	NS
	Témoins		C	0,68	95,0	0,991	-
			С	0,066	95,9	0,992	-

Cette diminution de l'incorporation du 32P en présence de la fraction T était prévisible puisque ce traitement concentre le PO₄ et cause une dilution du traceur. Cependant, l'augmentation de l'incorporation du traceur après l'addition des fractions I et II fut surprenante puisque la fraction II devait contenir autant de PO4 que la fraction T.

De même, puisque les procédures d'extractions de l'expérience nº 3 étaient identiques pour chacune des fractions T, II, et IV, la concentration en PO4 et les CVIP auraient dû demeurer les mêmes. Pourtant les CVIP étaient plus élevées pour la fraction II que le témoin, et réduites pour la fraction T (tableau 2.2). Ceci nous amena à postuler une modulation de la CVIP par une substance contenue dans la fraction II et peut-être IV. Nous avons donc entrepris l'expérience nº 4. Dans celle-ci, les CVIP suivent une allure semblable à l'expérience nº 3. La fraction obtenue immédiatement après la première filtration sur 0,2 µm (fraction T) accusa la plus forte baisse de CVIP en confirmant les résultats antérieurs. Par contre, seule la fraction V produisit une augmentation significative de la CVIP par rapport au témoin alors que la fraction II aurait dû faire de même. Deux facteurs peuvent expliquer le cas de la fraction II: l) la matière organique naturelle a changé entre le 14 août (exp no 3) et le 24 octobre (exp. no 4); 2) la filtration faite sur 0,2 µm au lieu de 0,4 µm a causé une rétention sur la membrane ou une altération de la fraction II.

La fraction V mise à part, une augmentation des CVIP a pu tout simplement être causée par une adsorption abiotique du PO₄ résultant, par exemple, d'un colmatage du filtre par des polyhydrocomplexes de fer ou d'aluminium qui, adsorbant le PO₄ durant l'ultrafiltration, causent une diminution du PO₄ dans le milieu et donc une plus grande activité spécifique du traceur. D'autre part, le PO₄ a pu se lier de façon abiotique

immédiatement après l'ajout de la fraction V dans le réacteur. Celle-ci contiendrait alors des sites d'adsorption très rapide.

Il est possible de rejeter l'hypothèse de l'adsorption abiotique en examinant les résultats de l'expérience n° 3 où l'effet des fractions T et II présentait, par rapport au témoin, une tendance similaire à ceux de l'experience n° 2, alors que les fractions I et III ne présentaient aucune différence. En effet, puisque le temps de contact du concentrat sur la membrane d'ultrafiltration est plus élevée pour les fractions I et III que pour les fractions II et T qui ne font que passer à travers le filtre, on devrait donc s'attendre à une plus grande perte de PO₄ dans les fractions I et III, et obtenir ainsi une CVIP plus élevée par rapport au témoin. Ceci n'a pas été observé dans l'experience n° 3, ni dans la n° 4. Cette observation nous permet de rejeter l'hypothèse d'une adsorption du PO₄ due au colmatage du filtre durant l'ultrafiltration.

La seconde hypothèse d'adsorption a été éliminée à partir des résultats de l'expérience n° 6. Au cours de celle-ci, l'incorporation du traceur a été mesurée en présence de la fraction V (obtenue de l'exp. n° 4). En théorie, si l'activité du filtrat est mesurée immédiatement après l'ajout du traceur (i.e. au temps zéro), on devrait y retrouver l'activité initiale à 100%. Mais si une partie du traceur est retenue sur la membrane, alors l'activité initiale sera moindre. La rétention est donc la différence entre l'activité initiale mesurée (Y₀, tableau 2.2) et 100%. L'expérience n° 6 a mis en évidence une rétention du traceur lors des filtrations successives. La rétention avec formol fut de 15.4% (erreur = 1.28%) et de 14.4% (erreur= 1.8%) sans formol. Ces résultats sont semblables aux valeurs obtenues lors

de l'expérience no l (15% et 20%). En plus, les rétentions pour les fractions II (exp. n° 3) et V (exp. n° 4) ne sont pas différentes de leurs témoins respectifs. Dans ces cas, une adsorption instantanée du traceur devrait causer une diminution de rétention et un plus faible coefficient de détermination (voir section 2.4). En conséquence, les rétentions observées ne sont pas attribuables à l'adsorption abiotique du traceur par la fraction V.

Les résultats du fractionnement sur gel de l'expérience nº 5 confirmèrent que le traceur demeura sous la forme PO4. Toutes les mesures furent faites avec et sans formaldéhyde afin de s'assurer que les résultats étaient uniquement attribuables à l'adsorption abiotique. Dans tous les cas, la chromatographie rapide des filtrats montra que 95% du traceur était à la position PO4 et qu'aucune rétention significative n'eut lieu lors de la refiltration. Ainsi, on peut rejeter l'adsorption abiotique du traceur par des colloïdes présents dans le filtrat durant la première demi-heure. Une expérience identique, mais avec préfiltration sur 0,45 µm (Millipore), a donné les mêmes résultats, montrant ainsi que dans le lac Tantarie, la biomasse bactérienne peut être aussi efficacement retenue sur 0,4 µm (Nuclepore) que sur 0,45 µm (Millipore).

Si les hausses de CVIP ne sont pas attribuables à l'adsorption abiotique, l'adsorption du PO₄ sur des produits possédant des sites actifs tels les hydroxides de fer ou encore les complexes d'acides fulviques n'est pas significative ici. Au contraire, il s'agit plutôt d'une stimulation des vitesses d'incorporation du PO₄ dans les cellules. D'un point de vue physiologique, une telle stimulation aurait un sens si le transport du PO₄
était couplé métaboliquement à l'activité des phosphatases sur la membrane plasmique. On a d'ailleurs confirmé la présence de phosphatases entre cette membrane et l'enveloppe cellulaire chez les bactéries (Cheng <u>et al</u>., 1970; MacAlister <u>et al</u>., 1977) et aussi chez la chlorophycée <u>Chlamydomonas</u> <u>reinhardi</u> (Matagne <u>et al</u>., 1976).

On pourrait expliquer cette augmentation de la CVIP par un mécanisme où le P serait un agent nécessaire pour transporter une source de C à l'intérieur de la cellule. En effet, Lean et White (1983) ont montré que lorsque l'apport de P est faible, l'incorporation de P est plus grande chez les bactéries et les microalgues que chez les phytoplanctons plus volumineux. Or, on sait que chez les bactéries, l'incorporation de plusieurs sucres se fait par le système de phosphotransférase (Saier, 1982; Kaback, 1970). Il est donc concevable de voir une demande accrue de PO₄ lorsqu'une source de C est transportée. Le mode de recirculation rapide du P appelé "Don Quichotte" par Lean (1973a) serait alors associé à une assimilation du C plutôt qu'à une limitation en P.

Taft <u>et al</u>. (1977) ont montré, en utilisant deux traceurs, que le glucose et le P de la molécule de glucose-6-phosphate sont transportés séparément, la moitié glucose l'étant plus lentement que l'autre. Ceci indique que le glucose-6-phosphate est scindé par les phosphatases avant d'être transporté en deux morceaux. La moitié PO4 pourrait alors regénérer le phosphoenolpyruvate requis pour le transport du glucose. Un tel système aurait des avantages écologiques certains. Si le P organique consiste en une moitié organique réfractaire, alors l'hydrolyse par la phosphatase pourrait au moins récolter la moitié PO4 du composé. En plus, si la moitié

organique est métaboliquement valable, alors la cellule pourrait récolter les deux morceaux séparément.

L'importance ultime d'un tel procédé dépendra par contre de la contribution en P qu'il peut amener à la croissance cellulaire. Bien que l'on ait déjà observé des relations non-linéaires entre le P excédentaire (Surplus Phosphorus), l'activité de la phosphatase et le taux de croissance à l'état d'équilibre (Fitzgerald et Nelson, 1966; Rhee, 1973), l'impact sur le taux de division cellulaire de cette modulation des apports nutritifs en P n'a pas encore été examiné.

Au cours de grands changements dans la concentration en PO4, on a observé des profils d'incorporation multiphasiques chez les bactéries (Rosenberg et al., 1977) et les champignons (Beever et Burns, 1977; Burns et Beever, 1979). Ces résultats suggèrent que la cellule possède plusieurs systèmes différents de transport, dont les propriétés cinétiques sont ajustées à la concentration extracellulaire du PO4. Cependant, en utilisant des concentrations voisines de celles du milieu naturel, plusieurs études ont montré que l'incorporation du P était monophasique dans des cultures de diatomées (Tilman et Kilham, 1976; Nyholm, 1977; Chisholm et Stross, 1976), et dans des systèmes marins (Perry et Eppley, 1981; Perry, 1976). Contrairement à ceci, des profils diphasiques ont été observés fréquemment dans les eaux du Bouclier Canadien (Chamberlain, 1968; Lean, 1973b; Levine et Schindler, 1980). Toutes ces variations dans les cinétiques d'incorporation du P pourraient refléter des différences dans l'architecture des membranes cellulaires entre des populations algales élevées en laboratoire, et des populations algales naturelles. Puisque la membrane cellulaire

contrôle la cinétique des composés qui sont transportés à l'intérieur, il ne serait pas surprenant de découvrir que les systèmes transporteurs sont couplés cinétiquement à la chimie des solutions du milieu extérieur. Ainsi, des cellules habituées à croître dans des milieux simples et équilibrés pourraient posséder une architecture de membrane simplifiée si on la compare au phytoplancton qui doit faire face à l'assortiment de réactions chimiques potentiellement compétitives que l'on retrouve dans les milieux naturels.

Nos résultats montrent que l'incorporation du P peut être modulée par certaines fractions de matière organique. L'apport au milieu de ces matières allochtones, ammenées du littoral par les pluies et les vents (Stewart et Wetzel, 1981), pourrait expliquer cette variation. Cette modulation devrait être étudiée plus à fond, car ce mécanisme pourrait exister dans le but de maintenir la stabilité des taux de division cellulaire malgré un environnement chimique très variable (voir Harris, 1980). A cause de cette modulation, il devient difficile d'utiliser la CVIP comme variable témoin pour comparer différents lacs.

Finalement, puisque nous avons proposé que la CVIP peut dépendre de la présence et de la disponibilité de composés organiques à faible poids moléculaire dans le milieu, il serait intéressant d'expliquer l'uniformité des concentrations en PO4 dans des eaux de niveau trophique très différent selon le rôle de ces composés organiques. On devrait aussi examiner leurs relations avec les compartiments internes de P. L'effet qu'ils pourraient produire à court et à long termes sur les réserves excédentaires en P ainsi que sur l'activité des phosphatases nous semble important afin de mieux comprendre les différences d'utilisation du P par unité de chlorophylle

rencontrée dans les lacs (Kalff et Knoechel, 1978). On devrait alors examiner la croissance du phytoplancton en fonction des réserves de P internes en utilisant des systèmes de culture en continu (Smith et Kalff, 1981; Denoyelles <u>et al.</u>, 1980; Barlow <u>et al</u>., 1973a, b).

2.4 Effet de la rétention du traceur sur les CVIP

Au cours de ses travaux, Lean (1973a) a soulevé le problème de l'artefact de filtration. Après une incubation avec PO4 il trouva que près de 46% du traceur dans le filtrat pouvait être retenu par une seconde filtration sur Millipore 0.45 µm. Cet artefact peut s'expliquer de deux facons. Le traceur peut être adsorbé soit par la membrane Millipore, agissant ainsi comme un simple échangeur d'ions, ou encore par un composé colloīdal. Dans le premier cas, la quantité de traceur adsorbée par la membrane devrait être proportionnelle à la concentration du traceur encore en solution au moment de la filtration. Dans le second cas, l'incorporation du PO4 par le seston ne se fera qu'avec le traceur qui n'a pas été adsorbé au départ par les colloïdes. Ce qui nous intéresse ici, c'est l'effet que produiront ces adsorptions sur la relation log-linéaire que l'on retrouve généralement lors des mesures d'incorporation du PO4 avec le seston. Le modèle d'un échange de premier ordre prédit que:

$$C = C_0 e^{-kt}$$
(7)

ou: C = quantité de traceur à t=0
Co = quantité de traceur au départ
t = temps écoulé depuis l'introduction du traceur
k = constante d'incorporation (CVIP)

Une transformation log donne:

$$\ln C = \ln C_0 - kt \tag{8}$$

31

ce qui produit une droite de pente -k. Nous considérons en premier lieu le cas ou la membrane adsorbe une quantité de traceur proportionnelle à la concentration de traceur en solution. Nous avons:

$$C = (1-f) C_0 e^{-kt}$$
(9)

ou f représente la proportion du traceur perdue au filtre. Alors, nous avons:

$$\ln C = \ln \left[(1-f) C_0 e^{-kt} \right]$$
(10)

$$\ln C = \ln (1-f) + \ln C_0 - kt$$
 (11)

ce qui donne encore une droite de pente -k, mais dont la valeur initiale sera diminuée. La seconde hypothèse propose une séquestration initiale suivie d'une incorporation du traceur restant. Donc:

$$C = [(C_{0} - A_{0}) e^{-kt} + A_{0}]$$
(12)

où A_0 représente la quantité de traceur initialement séquestrée. On peut maintenant combiner les deux situations en incluant l'effet de membrane (f):

$$C = (1-f) [(C_0 - A_0) e^{-kt} + A_0]$$
(13)

Après une transformation log:

$$\ln C = -\ln (1-f) + \ln [(C_0 - A_0) e^{-kt} + A_0]$$
(14)

Ce qui ne donne plus une droite, puisque maintenant la pente est:

$$\frac{d}{dt} \frac{(\ln C)}{dt} = -k \frac{(C_0 - A_0) e^{-kt}}{(C_0 - A_0) e^{-kt} + A_0}$$
(15)

Il n'y a donc plus de log-linéarité à moins que A = 0, auquel cas la pente redevient à -k. Notre démonstration implique que la log-linéarité et une adsorption initiale du traceur par un colloïde tendent à s'exclure l'une de l'autre. Ainsi, si la retenue par la membrane est proportionnelle au traceur restant, alors les estimés des pertes des CVIP devraient être justes. Si, par contre, la rétention n'est pas proportionnelle, alors les estimés des pentes pourraient s'en trouver faussés.

UNE METHODE RAPIDE POUR SEPARER DES FORMES DE PHOSPHORE SELON LE POIDS MOLECULAIRE EN UTILISANT LES GELS D'EXCLUSION ET LA CENTRIFUGATION

3.1 Introduction

A l'aide du traceur $32p_{04}$ (Rigler, 1966) et de la chromatographie sur gel, on a pu identifier une forme "colloïdale" de P dans les eaux naturelles (Lean, 1973a; Peters, 1979). Le rôle de cette forme présente encore des problèmes puisqu'elle ne semble pas disponible à court terme (Lean, 1973a), mais peut stimuler la croissance d'algues de culture à long terme (Paerl et Downes, 1978). Il est aussi possible que cette forme appartienne à un compartiment qui ne soit pas marqué au cours d'une incubation avec le traceur $32p_{04}$. Cette hypothèse peut expliquer l'absence d'un équilibre isotopique lors d'incubations à long terme (Levine et Schindler, 1980). Il devient donc nécessaire de séparer la forme PO₄ de la forme colloïdale afin d'en évaluer la biodisponibilité.

Une séparation précise des poids moléculaires peut se faire sur une colonne à chromatographie conventionnelle, mais l'analyse peut durer de 30 minutes à deux heures. La durée dépend principalement du type de gel employé, de la longueur de la colonne et du débit. Puisqu'un seul

échantillon peut être analysé à la fois, il se passe beaucoup de temps entre le premier et le dernier d'une série. Pendant ce temps, le P dans l'échantillon peut se dégrader et créer ainsi des pics secondaires. Cette interférence rend difficile la comparaison à moins d'opérer plusieurs colonnes en parallèle et d'ajuster tous les débits à la même vitesse. Ces ajustements sont souvent pénibles et il subsiste toujours la possibilité que des formes initialement à faible poids se transforment vers des poids plus élevés au cours de leur passage dans la colonne (Levine, 1976).

Toutes ces contraintes sont surmontables en accélérant l'analyse et en traitant plusieurs échantillons à la fois. La méthode d'extraction "Centriflo" (Amicon) est certainement rapide, mais elle emploie une membrane qui peut introduire l'artefact de filtration du P colloïdal observé par Lean (1973a). Les gels d'exclusion sont par contre plus avantageux car leur rétention est minime. Nous proposons ici une méthode qui utilise le gel Sephadex G-25 (Pharmacia) pour analyser quatre échantillons à l'intérieur de 20 minutes.

3.2 Principe d'opération

La méthodologie développée ici pour extraire les fractions se situe à un point intermédiaire entre la chromatographie conventionnelle sur colonne et le procédé en vrac d'extraction/purification du manufacturier (Pharmacia).

D'abord, un petit extracteur cylindrique (fig. 3.1) est rempli de gel à partir d'une suspension préparée au préalable. Puis l'extracteur est centrifugé pour assécher presque complètement cette suspension. Ensuite, on

injecte dans l'extracteur un échantillon dont le volume n'excède pas le



FIGURE 3.1. Coupe de l'extracteur. Toutes les mesures sont approximatives.

Après centrifugation, on garde le filtrat qui constitue la première fraction. Un pareil volume, mais d'éluant cette fois-ci, est ajouté à l'extracteur; une autre centrifugation produit la seconde fraction. Il s'agit de répéter plusieurs fois cette dernière opération afin d'obtenir 10 fractions qui alors contiennent la totalité de l'échantillon original. Le profil de poids moléculaire complet de l'échantillon est donc distribué dans ces 10 fractions; la première constitue le volume d'exclusion (void volume).

3.3 Matériaux

L'extracteur (fig. 3.1) est entièrement monté avec les tuyaux et raccords en CPVC de 3/4 de pouce employés dans la plomberie. La suspension de gel est supportée sur une maille de 20 µm (NITEX) qui elle-même repose sur un support poreux et rigide. Ce support, découpé et ajusté à l'extracteur, provient d'un équipement d'ultrafiltration (Amicon) et sert à supporter les membranes. Seule la maille est collée au tuyau de CPVC, le reste étant tout simplement emboîté une pièce dans l'autre. Les quatre extracteurs sont assemblés avec leur fiole respective puis balancés au même poids en ajustant la longueur du tuyau. On doit prendre garde cependant que l'extracteur puisse jouer librement autour du cardan de la centrifugeuse. Il ne faut pas utiliser les extracteurs dans les supports fixés à 45 degrés parce que la construction de plastique n'est pas assez forte pour supporter les forces latérales lors de l'extraction. En montant les extracteurs sur cardan, une vitesse de 2 000 tours est amplement suffisante pour garantir une extraction complète. On risque d'abîmer le gel au delà de cette vitesse.

3.4 Méthode

La suspension de gel est préparée en mélangeant 15 g de gel Sephadex G-25 (medium grade) dans 100 ml de la solution éluante. Cette dernière contient 0.3% NaCl et 0.02% NaN3. Ordinairement, le gonflement des billes de gel se fait soit en attendant 3 heures à la température de la pièce ou encore à 100 °C pendant 1 heure. Nous avons stérilisé la suspension à 120 °C pendant 1 heure, combinant ainsi deux opérations en une. Les billes doivent demeurer complètement immergées dans l'éluant. Après une période de refroidissement, on mélange délicatement le gel qui repose au fond en utilisant une palette en caoutchouc. Puis, les quatre extracteurs sont rapidement remplis jusqu'au bord avec la suspension car celle-ci se sépare rapidement. Les quatre extracteurs sont ensuite centrifugés à 2 000 tours pendant 1 minute, ce qui cause un certain tassement. Il faut alors ajouter encore un peu de la suspension et centrifuger à nouveau.

Le pouvoir de séparation pour les composés à haut poids moléculaire se vérifie à l'aide du bleu de dextrane qui est toujours élué avec le volume d'exclusion. Cette méthode est courante (Levine, 1976; Peters, 1979). Dans notre cas, nous avons injecté deux extracteurs avec le bleu de dextrane et les deux autres avec un traceur PO₄. Les quatre extracteurs furent ensuite montés dans la même centrifugeuse (IEC, HN-S). Dans l'ensemble l'extraction suivit le protocole suivant:

Préparation : charger les extracteurs avec le gel G-25. Centrifuger
 à 2 000 tours pendant une minute. Jeter le filtrat.

 2) Rinçage : ajouter 2 ml d'éluant dans chaque extracteur. Centrifuger
 et ensuite jeter le filtrat. Répéter 5 fois afin de bien tasser le gel dans les extracteurs.

3) Injection : ajouter 2 ml d'échantillon dans chaque extracteur, deux avec le 32P04 et les deux autres avec le bleu de dextrane. Centrifuger à 2 000 tours pendant l minute. Garder ces premières fractions.

 Extraction : ajouter 2 ml d'éluant dans chaque réacteur. Centrifuger et garder les fractions. Répéter 9 fois cette opération.

La concentration en bleu de dextrane a été mesurée par absorption à 600 nm et celle du traceur par scintillation Cerenkov avec un compteur LKB (Rackbeta).

3.5 Résultats

Le pic correspondant au bleu de dextrane sort toujours à la première fraction, tandis que celui du PO₄ est centré autour de la cinquième (fig. 3.2). On doit se souvenir ici que les pics sortent toujours à la même fraction quelle que soit la quantité de gel dans l'extracteur parce que toutes les billes du gel sont simultanément soumises à l'extraction lors de la centrifugation. Bien que cette méthode n'ait été tentée que sur le gel G-25 de type médium, l'utilisation d'un gel plus fin (G-25 fine) devrait exiger plus de fractions pour compléter une extraction équivalente. Cette méthode est probablement inadéquate avec les gels plus fragiles à plus haut poids moléculaire (G-50 et plus). Ils risqueraient de se briser sous la centrifugation.



FIGURE 3.2. Profils d'extraction pour les composés à grands et petits poids moléculaires. Le bleu de dextrane sert de standard pour les composés à poids moléculaire élevés (200 000 daltons). Le traceur PO₄ représente les petits poids moléculaires (environ 100 daltons). Le pouvoir de récupération pour chaque échantillon est de 99%.

La capacité à séparer les poids moléculaires se vérifie en comparant le PO₄ avec le bleu de dextrane qui apparaît à la première position (fig. 3.2). Le PO₄ a été choisi comme le représentant des faibles poids moléculaires parce que dans les eaux naturelles, le P peut se diviser en trois classes principales: un P à poids élevé (poids > 5000), sortant

toujours à la première fraction comme le bleu de dextrane; un composé intermédiaire (poids approx. = 250) appelé "XP" par Lean (1973a) et qui n'est pas toujours présent et, finalement, le PO4 et les composés organiques de P à faible poids moléculaires qui apparaissent à la même position (Lean, 1973a; Downes et Paerl, 1978; Stainton, 1980; White <u>et al.</u>, 1981). Quoiqu'il ne soit pas possible de résoudre le pic "XP", cette méthode permet de séparer le P à poids élevé du PO4, ces deux pics constituant les formes principales de P dans les eaux naturelles (Downes et Paerl, 1978). Nous avons utilisé cette méthode sur le terrain où nous voulions savoir si des ajouts de concentrats organiques à l'eau naturelle pouvaient adsorber le PO4 abiotiquement durant les 10 premières minutes de contact. La précision réduite de la séparation était suffisante pour nos besoins. On pourra tirer avantage d'une telle méthode lorsque la rapidité de l'analyse est plus importante qu'une séparation précise.

EFFET DE DEUX FRACTIONS ORGANIQUES SUR L'ECHANGE DU PHOSPHORE DANS UNE COMMUNAUTE NATURELLE DE PHYTOPLANCTON

4

4.1 Introduction

Les études traditionnelles sur le cycle du P se servirent des radiotraceurs et de l'analyse à compartiment pour pouvoir modéliser les flux du marqueur (Lean, 1973a, b). Cette approche suppose que l'équilibre isotopique est réalisé lorsque le profil du traceur atteint une asymptote. Dans sa revue des travaux de Chamberlain sur des lacs entiers, Rigler (1974) propose que le déséquilibre isotopique est causé par des compartiments de P non marqué par le traceur. Des études plus récentes (Levine et Schindler, 1980) montrent que sur une période de plus d'une semaine, l'activité isotopique est toujours plus grande dans le seston que dans la phase soluble. Ces expériences indiquent que le marqueur n'est pas uniformément distribué dans tous les compartiments, et que le cycle du P ne peut être traité comme un système fermé dans cet intervalle de temps. Puisque tous les compartiments ne sont pas marqués, il est possible que des composés de P non marqués agissent comme source et aient donc une importance nutritive, surtout lorsqu'on sait que la concentration en PO4 et son flux vers le seston ne permettent pas de discriminer entre deux lacs, dont la teneur en

chlorophylle est près de trois fois plus forte dans l'un que dans l'autre (Levine et Schindler, 1980).

On a proposé deux mécanismes à travers lesquels la matière organique dissoute (MOD) peut jouer sur le cycle du P:

 l) dans les eaux riches en humus, la MOD libérerait le PO₄ après avoir été hydrolysée soit par les U.V. ou les phosphatases (Francko et Heath, 1979, 1982);

2) dans les eaux alcalines, le PO₄ pourrait être séquestré par la MOD associée au fer et ainsi réduire sa disponibilité aux algues (Stewart et Wetzel, 1981).

Dans une autre étude (Chap. 2 ; Brassard et Auclair, 1984a), nous avons montré que l'ajout de fractions naturelles entre 2 X 10^3 et 10^4 PMA pouvaient changer le cycle du P en augmentant les CVIP. Ces expériences étaient à court terme et nous n'avons pas pu évaluer la pertinence de cette augmentation de la CVIP sur la croissance du phytoplancton. Nous avons donc conçu une expérience faite dans des sacs in situ, pour évaluer si un ajout de MOD pouvait influencer l'activité de la phosphatase, les CVIP et la croissance du phytoplancton. Les fractions de MOD furent extraites à partir des eaux naturelles selon une procédure d'ultrafiltration pour ensuite être soumise au seston naturel dont on avait enlevé les brouteurs. Durant l'incubation qui suivit, nous avons utilisé l'activité de la phosphatase comme indicateur du potentiel d'hydrolyse du phosphore organique dissout (POD). Les CVIP mesurées après l'ajout des fractions indiquaient les variations du compartiment PO4 résultant d'une hydrolyse du POD, ou d'une séquestration du PO₄.

4.2 Méthodes et matériaux

Puisque la capacité de complexation varie avec le pH de l'eau (Stumm et Morgan, 1981), ce qui pourrait altérer la nature des complexes formés à l'intérieur du POD, nous avons fait une série d'expériences dans deux lacs différents par leur acidité. Les expériences nº l et nº 2 se firent dans le lac Tantarie, un lac acide et oligotrophe. L'expérience nº 3 se fit au lac Laflamme, un lac circum-neutre. Des descriptions limnologiques de ces deux lacs sont disponibles dans Brassard et Auclair (1984a) et Ouellet et Jones (1983). Comme nous l'avons brièvement mentionné, le concept expérimental consistait à extraire la MOD par l'ultrafiltration des eaux naturelles en deux fractions définies selon leurs poids moléculaires. Les concentrats ainsi obtenus ont ensuite été mélangés au seston du lac de façon à créer une concentration finale de 2X, 5X et 10X la concentration originale du lac. Les mélanges fractions/eau du lac ont ensuite été incubés dans des sacs de polyéthylène suspendus dans le lac et les CVIP, l'activité de la phosphatase (AP) et la chl-a furent mesurées en cours d'incubation.

L'ultrafiltration sur fibres creuses suit les mêmes principes qu'avec les membranes d'ultrafiltration ordinaires; cependant, les effets de polarisation sont réduits et une plus grande surface de filtration est disponible. De grands volumes de liquide peuvent être traités dans un minimum de temps. Aux valeurs limites d'exclusion de chaque cartouche correspondent les limites de poids moléculaires des fractions I et II utilisés dans nos expériences. Ces limites, exprimées en PMA, sont les suivantes: 10^5 (Amicon H10X-100-20), 10^4 (Amicon H10P-10) et 2 x 10^3 (Amicon 5P2-43). L'opération se fit en trois étapes: la préfiltration, la

concentration de la fraction I et la concentration de la fraction II. A11 cours de la première étape, on puisa l'eau du lac à 1 m pour la passer à travers une maille de 100 µm dans le but d'éliminer les brouteurs et d'éviter ou de retarder le colmatage des fibres creuses par des grosses particules. On filtra ensuite sur les premières cartouches de 10^5 PMA et on récolta le filtrat en tant que solution "A", (PMA < 10^5). Les deux étapes de concentration qui suivirent consistaient à recirculer cette solution contre une cartouche de PMA plus faible. Seul les produits plus petits que la limite de la cartouche passaient au filtrat, alors que les plus grands étaient retenus de l'autre côté et sans cesse recirculés dans la cartouche. Au fur et à mesure que le filtrat s'accumulait, le volume de la solution recirculante diminuait, occasionnant ainsi une concentration de toute la MOD retenue par la cartouche. Ainsi, dans la seconde étape, la solution "A" $(PMA < 10^5)$ fut recirculée dans des cartouches de 104 PMA. Le filtrat fut conservé et appelé solution "B" (PMA < 104). Après avoir obtenu une réduction suffisante de son volume, la solution "A" contenant toute la MOD comprise entre 105 et 104 PMA fut donc désignée fraction I. De la même façon, selon la troisième étape, la solution "B" (PMA < 104) fut concentrée contre dans cartouches de 2 x 103 PMA pour donner la fraction II, entre 2 x 10^3 et 10^4 PMA. Le filtrat (PMA < 2 x 10^3) fut jeté.

Toute cette procédure fut répétée pour chaque lac. Les solutions A et B, à cause de leurs grands volumes (environ 1 000 L), furent entreposés dans des sacs en polyéthylène <u>in situ</u>. Tout l'appareillage d'ultrafiltration, comprenant un générateur et un compresseur, était contenu dans une embarcation amarrée le long du dispositif sur lequel étaient fixés les sacs A et B. Afin d'éviter les risques de photodissociation de la MOD et de

contamination par les eaux de pluie (Francko et Heath, 1979; Collienne, 1983), les sacs A et B furent couverts avec une toile opaque en polyéthylène durant l'opération. A la fin, les fractions I et II furent conservées dans des contenants en polyéthylène jusqu'au début des incubations. Les facteurs de concentration des fractions I et II variaient entre 60X et 100X la concentration naturelle alors que le contenu en C organique dissout (COD) demeura en dessous de 50 mg.L⁻¹, minimisant ainsi les risques de coagulation/précipitation qui ont été observés à des concentrations voisines de 80 mg.L⁻¹ dans plusieurs eaux (Buffle et Deladoey, 1982). Pour mélanger les fractions avec le seston, un sac <u>in situ</u> de 250 L fut rempli d'eau naturelle . Puis, après avoir agité le sac avec un aviron en bois, des aliquotes de 40 L furent passées à travers une maille de 100 µm (Nitex) pour retirer les brouteurs. Ces aliquotes furent versées dans des petits sacs, Deux petits sacs furent auquels on ajouta les fractions par la suite. préparés pour chaque niveau de concentration (2X, 5X et 10X) et pour chaque fraction (I et II). Associé à chaque paire, le seston d'un sac témoin fut dilué avec de l'eau pure (procédé "Q" Millipore) de façon à rendre son contenu comparable aux deux autres. Au total, 18 sacs furent ainsi remplis et suspendus à un radeau. Les eaux du lac Tantarie étant très claires, le radeau entier fut recouvert d'un grillage noir, ce qui réduisit l'insolation à 400 µE/m/sec à midi. Cette valeur est en dessous du seuil de photo-inhibition (Harris et Piccinin, 1977). Il se pourrait que cette diminution de l'insolation reduise la photodissociation de la MOD par les rayons U.V. Les sacs furent échantillonnés immédiatement après le mélange et ensuite à tous les 2 ou 3 jours durant 10 à 15 jours. Avant chaque prélèvement, les sacs furent agités avec une pompe à air manuelle. La chl-a

fut déterminée par fluorescence après filtration sur 0,45 µm et extraction à l'acétone (Strickland et Parsons, 1972); l'AP par fluorescence du substrat 3-méthylumbelliferyl phosphate selon la méthode de Jansson (1981); les mesures des CVIP furent réalisées selon la procédure de Brassard et Auclair (1984a). Le PTD a été dosé suite à une digestion à l'autoclave en présence de persulfate de potassium et d'acide sulfurique (APHA, 1981). Le carbone organique total (COT) a été mesuré avec un détecteur Beckman 915.

En ce qui concerne la présentation des résultats aux figures 4.1 à 4.5, chaque point représente la moyenne des contrôles et des traitements à 2X, 5X et lOX pour toute la durée de l'incubation. Le niveau de confiance a été établi comme suit: pour chaque expérience, trois analyses de variance ont été menées, une pour la CVIP, une pour l'AP et la dernière pour la chl-a. Ceci correspond au trois séries de données présentés à chaque Nous avons utilisé une analyse de variance à 2 niveaux afin de figure. séparer la variation totale entre la croissance journalière des populations et les changements uniquement causés par l'ajout de nos fractions. Dans ce second niveau, les témoins furent considérés comme ayant une concentration ajoutée de lX la concentration naturelle. Ainsi, nous avions quatre "traitements" de 1X, 2X, 5X et 10X. Nous avons comparé les moyennes des témoins (1X) avec les autres traitements en se servant du test LDS (Least Significant Difference) uniquement sur les analyses de variance dont les rapports F étaient significatifs. Les erreurs des moyennes furent alors obtenues des résidus de l'analyse, selon Snedecor et Cochran (1967). Tous les calculs statistiques furent faits sur le logiciel SPSS de l'Université du Minnesota. Afin de minimiser la possibilité d'une erreur de type II,

surtout concernant les résultats des CVIP, nous avons choisi un niveau de confiance P < 0,1.

4.3 Résultats et discussion

Les mesures de COT et de PTD ont été obtenues à partir des fractions concentrées et divisées par leur facteur de concentration pour arriver aux valeurs naturelles. En général, les valeurs de COT et de PTD étaient presque trois fois plus élevées au lac Laflamme qu'au lac Tantarie (tableau 4.1). Pour chaque lac, les COT étaient également réparties entre les fractions I et II. La fraction I était claire, tandis que l'autre avait une teinte jaune foncé, caractéristique des composés humiques. La répartition du P total n'était cependant pas uniforme: alors que le P total du lac Laflamme était égal dans les deux fractions, la fraction II du lac Tantarie en contenait deux à trois fois plus que la fraction I. Ces différences s'associent à la nature individuelle de chaque lac. Le lac Laflamme est mésotrophe et neutre (pH = 6,5 - 7,0), tandis que le lac Tantarie est oligotrophe et acide (pH = 4,9 - 5,3). Au lac Laflamme, nous avons dénombré 29 espèces de phytoplancton comparativement à seulement 6 au lac Tantarie.

4.3.1 Fraction I

L'effet principal que l'on peut attribuer à la fraction I fut d'enrichir les sacs avec des phosphatases solubles présentes dans cette fraction (fig. 4.1 et 4.2). Cette augmentation initiale nous permis d'évaluer les quantités respectives de phosphatases particulaires et solubles dans le seston.

		PMA		P Total	COT	
Lac	Fraction	Min.	Max.	(µg 1-1)	(mg 1-1)	
Laflamme	I II Total	104 2 x 103	105 104	2,0 1,6 3,6	0,64 0,70 1,34	
					* 'a	
Tantarie	I II Total	104 2 X 103	105 104	0,3 0,8 1,1	0,22 0,25 0,77	

TABLEAU 4.1. Contenu des fractions I et II avant la concentration.

Puisque la matière particulaire était exclue des fractions I et II, les phosphatases solubles étaient seulement présentes dans la fraction I. Ainsi, les augmentations initiales d'AP résultaient d'un ajout de phosphatases solubles proportionnel aux facteurs de concentration de 2X, 5X et 10X. La phosphatase totale présente dans les sacs était donc la somme des phosphatases solubles et particulaires, provenant de la communauté et des fractions ajoutées. Une régression de l'équation:

$$P_{t} = C P_{g} + P_{p} \tag{16}$$

où P_t représente l'activité de la phosphatase totale dans le sac; C, le facteur de concentration, nous permis de prédire les valeurs de la phosphatase soluble (P_s) et de la phosphatase particulaire (P_p , tableau 4.2). Dans chaque lac, la proportion relative () entre les phosphatases solubles et particulaires était la même, alors que les activités absolues étaient plus élevées au lac Laflamme. Puisque les valeurs initiales de

chlorophylle étaient les mêmes pour chaque lac, l'activité de phosphatase particulaire par unité de chlorophylle était donc plus élevée au lac Laflamme. On peut alors interpréter cette plus grande activité comme une réponse de la communauté à la teneur plus élevée en MOD dans ce lac (tableau 4.1), ce qui indiquerait que la MOD du lac Laflamme doit contenir un POD hydrolysable. Afin d'évaluer une hydrolyse de ces produits, nous avons alors utilisés les CVIP parce que le compartiment PO4 est situé à un lieu de transfert important à travers duquel tout le P doit passer avant de pénétrer l'intérieur de la cellule (Kulaev et Vagabov, 1983). L'échange du PO4 entre la cellule et le milieu est très rapide et les CVIP sont particulièrement sensibles à toute variation dans la concentration du PO4 ambiant (Rigler, 1966).



FIGURE 4.1. Effet de la fraction I ($104 < PMA < 10^5$) au lac Tantarie. Les valeurs sont les moyennes des enclos témoins et expérimentaux aux trois niveaux de concentration. A, témoins; D, 2X; O, 5X; Δ , 10X. Les variables ont été soumises à la procédure ANOVA. Dans ce qui suit, le symbole "*" indique une différence significative entre le témoin et le traitement (P < 0,10; LSD). chl-a, chlorophylle-a; CVIP, constante de vitesse d'incorporation du phosphore; PASE, activité de la phosphatase; LSD, Least Significant Difference.

					LSD	
Variable	Rapport F	Degré de liberté	Confiance	X 2	X5	X 10
chl-a	1,39	3/37	0,262			
CVIP	2,42	3/37	0,082	*	*	*
PASE	5,18	3/29	0,005			*

Tout changement dans l'apport de PO_4 résultant de l'hydrolyse des POD ou autrement devrait alors modifier la concentration et ainsi altérer les valeurs de la CVIP. Dans le lac Tantarie (fig. 4.1), les CVIP diminuèrent par rapport au témoin, ce qui indique une hydrolyse. En plus, les baisses de CVIP arrivèrent quatre jours après l'ajout de phosphatase. On a donc eu une augmentation du compartiment PO_4 , ce qui a dilué le traceur, ou bien encore un taux réduit du transport de P, conséquence possible d'une accumulation préalable de P dans les réserves internes de la cellule. La quantité réelle de P hydrolysable disponible pour stimuler la croissance devait être assez faible puisque les teneurs en chl-a n'ont pas changé de façon significative. Nous pensons qu'une quantité substantielle de P disponible aurait dû occasionner une croissance et donc une élévation de la chl-a.

Lac	Moyenne de la	Phosphatase (nM PO ₄ L ⁻¹ min ⁻¹)							
	chlorophylle-a (µg L ⁻¹)	Рр	R	Ps	*	N	r ²		
Tantarie	0,16 ± 0,02	3,59	91,3	0,34	8,7	9	0,94		
Laflamme	0,16 ± 0,02	5,64	91,2	0,55	8,8	9	0,71		

TABLEAU 4.2. Activité des phosphatases solubles et particulaires selon la régression de la phosphatase soluble ajoutée au jour zéro. N, taille de l'échantillon; r^2 , coefficient de détermination.

Dans le lac Laflamme, les CVIP sont restées les mêmes. Il n'y a donc pas eu d'hydrolyse (fig. 4.2). Nous ne pouvons pas expliquer pourquoi les

valeurs de chl-a furent plus faibles que les témoins dans le traitement 2X, mais identiques aux témoins pour les autres concentrations. Cependant, la fraction I contenait alors toute la MOD comprise entre 10⁴ et 10⁵ PMA. Il y avait donc plusieurs composés et plusieurs interactions chimiques possibles à des concentrations différentes. Il est possible alors que, malgré les précautions prises pour éviter la précipitation, les composés responsables de la baisse en chl-a à la concentration 2X aient été précipités aux concentrations plus élevées. Quoiqu'il en soit, les lectures de chl-a n'ont pas augmenté par rapport au témoin du lac Laflamme, ce à quoi on aurait dû s'attendre si une hydrolyse avait eu lieu. Nous devons donc conclure que la fraction I n'agissait pas comme une source de P pour la communauté.

4.3.2 Fraction II

La fraction II est située dans la région des poids moléculaires correspondant à la plupart des composés humiques et fulviques qu'on retrouve habituellement dans les eaux naturelles (Stewart, 1984). Les effets produits par celle-ci furent totalement différent de la précédente fraction I. Les deux expériences faites au lac Tantarie donnèrent les mêmes résultats, quoique plus prononcés lors du 5 juin (fig. 4.3) que du 7 juillet (fig. 4.4). Une réduction de l'activité de la phosphatase concordait avec une baisse de chl-a, tandis que les CVIP demeuraient inchangées (fig. 4.4).



FIGURE 4.2. Effet de la fraction I (104 < PMA <10⁵) au lac Laflamme. Les resignations sont identiques à la fig. 4.1.

Variable	Rapport F	Degré de liberté	Confiance	X 2	X 5	X 10
chl-a	4.07	3/29	0.016	*		
CVIP	0.70	3/28	0.560			
PASE	7.05	3/28	0.001			

En supposant encore une fois que les mesures des CVIP indiquent indirectement l'hydrolyse des composés POD et que l'assimilation de P résulte en une croissance algale, les résultats pour la fraction II du lac Tantarie furent interprétés comme suit:

 La baisse simultanée de chl-a et de l'AP indique que les phosphatases sont en majeure partie produites par les algues de ce lac;

2) la baisse de la population algale montre que la fraction ajoutée a empêché la croissance. Ceci pourrait être l'effet d'une substance toxique contenue dans notre fraction ou bien d'une séquestration de quelques éléments essentiels à la croissance algale. Les résultats furent similaires à ce qu'on observa lors d'ajout de matières humiques à l'eau d'un petit lac (Stewart et Wetzel, 1982). De la même façon, on a également observé que la productivité primaire était inversement reliée au COT, à l'azote et aux groupes hydroxiques de polymères retrouvés dans des réservoirs au nord du Manitoba (Jackson et Hecky, 1980). Ces auteurs proposèrent que la productivité réduite était liée à la séquestration du fer par une matière organique allochtone;

3) les valeurs constantes des CVIP indiquent une absence d'hydrolyse des P organiques. La séquestration abiotique avec des complexes phospho-métallique-humique (Jackson et Schindler, 1975; Francko et Heath, 1982) peut être rejetée pour les mêmes raisons puisqu'un tel phénomène aurait augmenté les CVIP. Tout comme la fraction I, la fraction II ne semble pas avoir contenu une quantité suffisante de P organique hydrolysable;



FIGURE 4.3. Effet de la fraction II (2 X 10^3 < PMA < 10^4) au lac Tantarie en juin 1982. Les désignations sont identiques à la fig. 4.1

					LSD		
Variable	Rapport F	Degré de liberté	Confiance	X 2	X 5	x 10	
chl-2	9.05	3/29	0.001	*	*	*	
PASE	4,77	3/17	0,014	*	*	*	

4) le plus surprenant résultat de ces expériences fut de voir une baisse de croissance, tandis que les CVIP demeuraient constantes. Nous nous attendions à une baisse des CVIP parce que les sites d'assimilation du PO₄ situés sur la membrane cellulaire auraient dû suivre jusqu'à un certain point la chlorophylle. En utilisant des filtres pour séparer le seston en différentes tailles, Lean et White (1983) ont montré que lorsque le P est faible, les valeurs des CVIP sont presqu'entièrement reliées à l'activité des bactéries. Des conclusions identiques furent exposées par Lehman et Sandgren (1982). Si on considère un modèle à 3 compartiments comme adéquat pour décrire un profil diphasique, résultant d'une assimilation simultanée par l'algue et la bactérie, alors la pente du profil est presque toujours log-linéaire durant les premières 10 minutes d'incubation. Riggs (1963) a montré mathématiquement que la pente ainsi obtenue (et donc la CVIP) était alors reliée en grande partie au compartiment le plus rapide. Etant donné que nos mesures de CVIP étaient limitées à 10 minutes d'incubation avec le traceur et que les valeurs de chl-a n'étaient pas reliés au CVIP, nous proposons que les CVIP reflètent une assimilation bactérienne du PO4.

Au lac Laflamme, l'addition de la fraction II produisit une faible élévation de l'AP (fig. 4.5). Selon Stewart et Wetzel (1982), l'AP peut être stimulée par une séquestration du phosphore par la matière humique, ceci parce qu'une diminution en PO4 augmente l'AP.



FIGURE 4.4. Effet de la fraction II (2 X 10^3 < PMA < 10^4) au lac Tantarie en juillet 1982. Les désignations sont identiques à la fig. 4.1.

-					LSD	
Variable	Rapport F	Degré de liberté	Confiance	X 2	X 5	X 10
cł., -a	3,49	3/29	0,033		*	*
CVIP	0,69	3/29	0,009			
PASE	5,27	3/18	0,009		*	*

Il est donc possible que, dans le lac Laflamme, la séquestration du P par notre fraction II ait été compensée par une augmentation de l'AP, de sorte qu'aucun changement n'ait été observé dans les valeurs de CVIP ou de chlorophylle. Généralement, la fraction II du lac Laflamme semble avoir causé peu d'effets. En se basant sur les suppositions déjà énoncées sur la signification des mesures de CVIP et de chl-a, nous sommes encore poussés à conclure qu'il n'y avait pas de POD disponible aux algues dans cette fraction. On a donc eu affaire à un système fermé.

On peut maintenant assigner les comportements différents de nos deux lacs à des différences fonctionnelles entre la fraction II de Tantarie et celle de Laflamme. Nous remarquons que la matière organique du lac Laflamme (pH = 6,5) et celle du lac utilisé par Stewart et Wetzel (pH = 8,2) causèrent une augmentation de l'AP, tandis qu'au lac Tantarie (pH = 5,2) nous avons noté une diminution de la croissance. Il est donc possible que l'acidité contrôle l'interaction entre la MOD et le P, d'une part, et entre la MOD et les métaux, d'autre part. Il est difficile de pousser la comparaison plus loin parce que les deux études ont utilisé des paramètres estimant la croissance (incorporation du C et variations de la chl-a) qui ne sont pas toujours linéairement reliés aux taux réels de reproduction des algues (Li <u>et al.</u>, 1981; Auclair <u>et al.</u>, 1982).



FIGURE 4.5. Effet de la fraction II (2 X 103 < PMA < 10^4) au lac Laflamme. Les désignations sont identiques à la fig. 4.1.

					LSD	
Variable	Rapport F	Degré de liberté	Confiance	X 2	X5	X 10
chl-a	0.70	3/29	0,561			
CVIP	1,32	3/29	0,286			
PASE	5,33	3/29	0,005			*

4.4 Conclusion

Le but de ces expériences était d'établir la présence et la disponibilité d'une source de POD dans les eaux naturelles. Nous avons mesuré l'AP, la CVIP et la chl-a afin de cerner des points clés dans le cycle du phosphore, i.e.: l'hydrolyse du POD par des phosphatases, l'échange du PO4 résultant de cette hydrolyse et l'accumulation de ce P dans l'algue donnant éventuellement lieu à la croissance. Malgré les grandes fluctuations observées dans nos sacs, les mesures de CVIP ne baissèrent qu'une seule fois, conséquence de l'enrichissement en phosphatase. Si une quantité significative de POD avait été présente au cours de nos incubations, une baisse dans les CVIP et/ou une augmentation de la chl-a auraient dû en témoigner. Contrairement à nos attentes, les résultats indiquent que dans les deux lacs, le seston recircule sans cesse une quantité fixe de P selon les exigences d'un système fermé.

Dans leur ensemble, nos deux fractions s'étendaient entre 105 et 2 x 103 PMA. Nous n'avons pas étudié des substances plus petites, mais les études au lac Memphrémagog de Peters (1981) ont montré que les échanges les plus vifs du traceur se faisaient avec des substances de P à faible poids moléculaire (PMA 400). Ceci voudrait donc dire que la MOD la plus réactive se situerait en dessous d'un PMA de 2 x 10^3 . Ainsi, selon l'hypothèse de Currie et Kalff (1984b) où la bactérie serait la source majeure de POD aux algues, il faudrait que la bactérie relâche un POD plus petit que 2 x 10^3 .

Quoique nos résultats supportent l'existence d'un système fermé, notre période d'expérimentation se limitait au milieu de l'été. Il est bien improbable que les eaux naturelles se comportent toujours ainsi. En effet,

des POD dégradables par les rayons U.V. ont fournit une source importante de P dans un lac acide (Francko et Heath, 1979). Dans des lacs de Nouvelle-Zélande, White et Payne (1980) ont montré que des composés à haut poids moléculaire pourraient être disponibles aux algues. Il semble cependant que les charges en P les plus importantes arrivent au printemps, puisque le modèle empirique de Dillon et Rigler (1974) prédit la moyenne de chlorophylle au cours de l'été à partir du P total obtenu durant le retournement printanier. Dans le même ordre d'idées, Herbes et al. (1975) ont trouvé des POD disponibles beaucoup plus abondants au début du printemps et décroissant rapidement jusqu'à la mi-juin. Ceci implique qu'après une charge initiale au printemps, l'eau du lac et sa communauté dépendent d'un PO4 constamment régénéré à partir du broutage ou des sédiments. Ainsi, durant l'été, le rôle des matières humiques, et peut-être leurs interactions avec les métaux traces où avec le PO4, deviendrait plus important pour structurer les fluctuations des communautés naturelles que ne le serait la disponibilité d'une source organique de P.

CONCLUSION

Les relations empiriques connues entre le P total printanier et la chl-a durant l'été, l'absence d'équilibre isotopique déjà observée lors des échanges entre le seston et le PO4 et la présence de P organiques hydrolysables suggèrent que des formes de P autres que le PO4 constituent une source significative de P au seston. L'identité de ces formes se résume à une classification fonctionelle selon le PMA et, parce qu'elles sont en majeure partie inaccessible au traceur, leur disponibilité ne peut être inférée que par l'effet qu'elles ont sur des mécanismes mesurables tels l'incorporation du PO4, l'activité des phosphatases et la croissance algale. Deux expériences ont été menées pour établir la disponibilité de ces formes de P. Pour ce faire, la concentration naturelle d'une gamme de composés organiques a été artificiellent augmentée en soumettant au seston naturel des concentrats obtenus par ultrafiltration des eaux du même lac.

Les résultats de la première expérience où le seston est exposé a court terme à une MO entre un PMA de 500 à 104 offre une explication possible du "comportement Don Quichotte" proposé par Lean (1973a). S'il est difficile d'expliquer la relâche du PO4 dans des conditions apparentes de carences, il faut alors considérer que le rôle de la dynamique du PO4 avec le seston dépasse le cadre d'une simple limitation de la ressource en P. En
effet, l'incorporation du PO₄ à très grande vitesse suivie de sa relâche immédiate dans le milieu semble inadéquate, à moins de convenir que c'est justement cet échange rapide qui est le but de la manoeuvre. Ce but pourrait être de transporter une source de C à travers la membrane cellulaire. Dans cet optique, la recirculation du PO₄ ne se présente plus comme un gaspillage, mais bien comme une économie de moyens. Dans l'éventualité d'une telle hypothèse, il faut alors repenser les modèles d'échanges pour tenir compte du fait que la dynamique du PO₄ agit à deux niveaux: a) le transfert net de P et son accumulation dans les réserves intracellulaires; b) le transport du C.

Les expériences à long terme indiquent que durant la période estivale les fluctuations des communautés algales ne sont pas gouvernées par des sources en P organique biodisponibles, mais par des matières organiques couvrant un PMA de 2 X 10^3 à 10^4 et dont l'effet s'apparente à la toxicité. En supposant que cette gamme représente la totalité du P potentiellement disponible au seston, on doit conclure que le système est fermé à l'apport du P et que, en accord avec les relations empiriques de Dillon et Rigler (1974), la population doit assurer sa croissance en puisant dans ses réserves internes de P accumulé plus tôt dans la saison.

Dans leur ensemble, les deux expériences montrent que la MO naturelle a une influence sur la dynamique du PO4 à court terme et aucune à long terme de sorte qu'il n'est pas possible de relier la dynamique du PO4 avec une assimilation en P. La gamme de poids moléculaires de la seconde expérience ne couvre cependant pas toute celle de la première puisque, dans l'expérience à long terme, la disponibilité de la MO située entre un PMA de

500 à 2 000 n'a pas été étudiée. Il est possible que tout le P disponible soit dans cette dernière. Si le P est réfractaire, les calculs faits sur l'expérience de Levine et Schindler (1980) montrent qu'il forme 80% du P total et que le 20% restant comprend les formes de P échangées en circuit fermé avec le P04 et le seston. Si le P est disponible, il fait alors partie du compartiment invisible tandis que le P marqué, soit 20% du P total, résulte de l'accumulation du traceur dans le seston et dans des composés organiques réfractaires relâchés par lui. Dans les deux cas, le rapport isotopique des fractions marquées ne peut pas indiquer à lui seul si elles sont disponibles ou non.

La disponibilité d'un P de faible poids reste à être vérifiée et rejoint l'hypothèse de Currie (1986) qui propose que le flux majeur de P vers le seston n'est pas associé au PO₄ mais plutôt à l'incorporation directe d'un P organique. L'argument principal est que la quantité de PO₄ absorbée n'augmente pas aussi rapidement que celle du C lors de :a croissance algale; une source autre que le PO₄ devient alors nécessaire. La validité de cette approche repose sur la précision accordée à la méthode de Rigler (1966) pour estimer la concentration en PO₄, sur la supposition que les réserves intracellulaires en P ne sont pas des sources importantes avant le calcul du bilan, et sur la justesse des mesures du C assimilé par l'algue. La question n'est pas encore réglée, mais il est clair que si une partie de la dynamique du PO₄ est employée à assimiler le C, la disponibilité au seston d'une source de C devient alors aussi importante que celle du P.

PERSPECTIVE: LES MODELES A COMPARTIMENTS ET LE ROLE DU PO4

Le rôle presque universel qu'on a attribué au PO4 pour expliquer le bilan du P dans les eaux naturelles (Cembella <u>et al.</u>, 1984a, b) est remis en question parce durant l'été la dynamique du PO4 est découplée de la croissance algale (Auclair <u>et al.</u> 1985) et ne peut toujours justifier le bilan de P (Currie 1986). Cependant, la relation empirique entre la charge de P total au printemps et la chl-a moyenne durant l'été demeure vraie (Dillon et Rigler, 1974). Il est donc possible que le PO4 n'ait rien a voir avec la prise en charge du P par les algues. Si c'est le cas, l'interprétation des profils d'incorporation du PO4 doit être modifiée.

L'usage des modèles à compartiments pour prédire la dynamique du P dans les eaux naturelles est fondée sur la prémisse que le PO₄ y joue un rôle important. Cette supposition semble raisonnable puisque le PO₄ est très disponible et s'échange rapidement avec le seston en présentant un profil d'incorporation (Rigler, 1966) qui s'ajuste bien sur un modèle à trois compartiments. La solution (Riggs, 1963) est une équation à un ou deux termes exponentiels, respectivement appelée monophasique ou diphasique par Lean et Rigler (1974). L'équation comprend en plus un troisième terme dont la valeur détermine si le profil atteint une asymptote (système fermé)

ou demeure décroissant (système ouvert) (Sheppard, 1962). Quatre types de profil d'incorporation sont théoriquement possibles en combinant ces propriétés: le profil peut être monophasique-ouvert, monophasique-fermé, diphasique-ouvert ou diphasique-fermé.

Malgré cela, il est difficile d'assigner un mécanisme aux différents profils observés parce que les élements essentiels du modèle ne trouvent pas tous un équivalent réel. Rigler (1974) a tenté d'expliquer la dynamique du P entre le seston et le milieu en se servant d'un modèle fermé à trois compartiments qu'il a réparti entre la phase particulaire et la phase soluble, cette dernière étant la partie capable de passer à travers un filtre de 0,45 µm. Deux dispositions sont alors possibles: un compartiment soluble (P04) lié à deux compartiments particulaires, ou bien deux compartiments solubles à un compartiment particulaire.

Pour vérifier l'une ou l'autre, il faut trouver le nombre de compartiments solubles et s'assurer que celui-ci ou ceux-ci soient directement reliés au profil diphasique. En faveur de deux compartiments solubles, la séparation de la fraction marquée montre bien que le P soluble se divise en deux classes principales: un P réfractaire à l'adsorption sur colonne HZO (<u>Hydrous Zirconium Oxide</u>) et un autre, présumément le PO₄, complètement adsorbé (Rigler, 1968). Cependant, la fixation du traceur P dans un compartiment soluble n'est pas un facteur important pour expliquer la nature diphasique des profils (Lean et Rigler, 1974) puisque des profils diphasiques sont observés même si le P réfractaire est complètement absent. Dans le même ordre d'idées, Lean (1973a) a identifié trois sortes de P soluble en utilisant le fractionnement sur gel: un P dit "colloīdal", avec

un PMA de 5 000; le PO4; et une forme intermédiaire appelée le "XP" (PMA=250), cette dernière étant plus rare et en faible quantité. Des incubations de la forme "colloïdale" marquée au préalable montrent que le seston en incorpore très peu puisque l'échange avec le P colloïdal se fait environ 100 fois moins vite qu'avec le PO4. Le P colloïdal ne pouvant pas être le deuxième compartiment soluble, l'hypothèse des deux compartiments solubles tombe. La seconde hypothèse de deux compartiments particulaires n'est pas plus soutenable parce qu'alors la prémisse d'un système fermé exige qu'un seul compartiment soluble soit marqué. Dans les deux cas, la présence d'un compartiment réfractaire marqué joue une hypothèse contre l'autre et rend inadéquat le modèle fermé à trois compartiments.

Devant cela, Lean et Nalewajko (1979) pensent qu'il n'y a pas de troisième compartiment et proposent un modèle basé sur un système fermé à deux compartiments parce que, dans l'ensemble, 80% des profils d'incorporation saisis dans les grands lacs et dans les lacs du bouclier Canadien sont du type monophasique-fermé. Cette solution est la seule solution exacte du modèle et les auteurs la nomment "type 2". Les autres profils observés, le "type l" (monophasique-ouvert) et le "type 3" (diphasique-fermé), sont alors considérés respectivement comme étant un cas limite du type 2, où le compartiment PO₄ devient relativement très grand, et un artefact de rétention lors de la filtration. Deux obstacles majeurs sont ainsi évités: la solution exacte du type l implique un système ouvert, alors que le modèle est réputé fermé; le type 3 est diphasique, alors que leur modèle n'est que monophasique. Plus tard, Lean et White (1983) montrent que le profil diphasique peut être généré par une compétition entre algues et bactéries (Rhee, 1972) pour une ressource commune en PO4, en

accord avec le "<u>Principle of Lumping</u>" de Sheppard (1962) qui explique le profil diphasique par les effets combinés de deux systèmes fermés de type 2.

Le modèle fermé à deux compartiments est une amélioration puisqu'il explique la compétition algue-bactérie. Mais il est peut-être trop simple. Au lac Matamek, Chow-Fraser et Duthie (1983) tentent de vérifier la classification de Lean et Nalewajko (1979) sur une série de profils saisis entre le printemps et l'automne. En plus des types classiques 1, 2 et 3, ils observent à plusieurs reprises un quatrième profil de type diphasique-Ils nomment celui-ci "type 1-2" et proposent qu'il est une ouvert. transition entre les types 1 et 2. Ce nouveau profil présente un problème semblable au type 1 parce qu'il n'est pas possible d'en tenir compte sans opter pour un modèle ouvert avec un minimum de deux compartiments. Dans l'ensemble, si on considère les quatres profils observables, deux d'entre eux ne peuvent être ajustés par un modèle fermé sans invoquer un artefact ou une approximation. Il y a donc lieu ici de remettre en question le choix initial d'un modèle fermé.

Rigler (1974) a proposé la restriction au modèle fermé parce que les grands transferts de P à travers l'épilimnion sont trop lents pour être mesurés par une expérience à court terme telle que l'incubation du traceur $32PO_4$ dans un petit volume d'eau naturelle. Le système est également présumé fermé parce que la plupart des profils d'incorporation approchent une asymptote après quelques heures d'incubation, ce qui indiquerait l'équilibre isotopique et donc un système fermé. On peut également soutenir qu'un petit volume d'eau emprisonné dans un réacteur ne peut former un système ouvert parce que, bien sûr, le P ne s'en échappe pas.

En réalité, le temps de résidence du traceur est de 205 minutes dans les compartiments internes des algues et des bactéries (Berman et Skyring, 1979) et l'assimilation est si rapide chez certains nanoplanctons qu'ils peuvent doubler leur contenu de P en moins de 5 minutes (Lehman et Sandgren. 1982). Ces échelles de temps sont courtes et leur effet devrait être visible durant les 2 ou 3 heures que dure l'incubation avec le traceur. Deuxièmement, la logique établie entre l'asymptote et l'équilibre isotopique a été inversée. S'il est vrai que la condition de fermeture est équivalente à l'équilibre isotopique, il est faux d'affirmer que l'équilibre isotopique se déduit de l'asymptote. D'abord, la présence dans le réacteur d'un ou plusieurs compartiments réfractaires force tout le traceur à éventuellement s'y accumuler puisqu'il ne peut pas en sortir. L'asymptote se réalise ensuite parce que l'activité du traceur devient constante dans le temps. Dans ce cas, le rapport isotopique entre les compartiments est fonction non pas de l'équilibre isotopique, mais bien de l'affinité qu'ont les compartiments réfractaires pour le traceur. L'asymptote n'est donc pas une condition suffisante pour établir l'équilibre isotopique. Troisièmement, le fait d'isoler une petite quantité d'eau naturelle dans un réacteur impose un système fermé en ce qui concerne l'échange de P hors du réacteur mais n'altère en rien l'existence de sources de P à l'intérieur, tel l'hydrolyse de P organique venant diluer le compartiment de PO4 (Francko et Heath, 1979) et pousser le traceur dans la phase particulaire.

Devant l'existence des quatre types de profils prédits par la solution génerale d'un modèle à trois compartiments, la limitation aux seuls systèmes fermés n'est donc pas justifiable parce qu'elle limite la portée théorique du modèle et n'est pas capable d'expliquer l'observation

expérimentale. Cette limitation revient à déclarer <u>a priori</u> que l'accumulation de P dans la phase particulaire est en tout temps indépendante de la dynamique d'incorporation du PO₄ ou trop lente pour l'influencer, ce qui est contraire à l'expérience. Pour être utile, le modèle recherché doit plutôt satisfaire les quatre profils de la solution générale; il doit admettre la possibilité d'une source de P externe, tout en tenant compte que le PO₄ n'est pas toujours relié à la seule assimilation de P.

6.1 Le modèle étendu

Pour les fins de cette discussion, un modèle est un ensemble de systèmes constitués de liens et de compartiments capables de générer les quatre profils d'incorporation. Pour chaque modèle, il existe un système de base à partir duquel s'obtiennent les autres systèmes plus simples. Le choix du système de base est donc important car il impose une limite pré-établie aux mécanismes éligibles pour expliquer la dynamique du PO₄. Ainsi, le modèle fermé à trois compartiments de Rigler (1974) impose une double restriction tant qu'aux systèmes qui en font partie: ceux-ci doivent être fermés et ne pas avoir plus de trois compartiments. Il en va de même pour le modèle à deux compartiments de Lean et Nalewajko (1979). A l'inverse, le choix d'un système de base trop grand n'a pas d'intérêt car le modèle devient capable d'ajuster n'importe quoi et perd son déterminisme.

La solution générale des modèles à compartiments est un problème de valeurs caractéristiques. Jacquez (1985) donne la solution pour les systèmes mamillaires et caténaires à trois compartiments, ainsi que toutes les façons possibles de lier deux compartiments entre eux. La méthode ici

consiste d'abord à trouver à l'intérieur du système de base le plus simple les systèmes qui donnent une solution exacte aux quatre types de profils d'incorporation du ³²P04. Le nombre de systèmes capables de satisfaire une solution particulière augmente géométriquement avec le nombre de compartiments mais se limite par les hypothèses de départ suivantes:

1) Tous les systèmes sont réputés stables et à l'équilibre (<u>Steady</u> <u>State</u>). Ceci se justifie par le court temps d'incubation nécessaire pour obtenir les profils d'incorporation du traceur. Durant ce temps (maximum de quelques heures), on considère que les compartiments ne changent pas de taille et que les flux de P entre eux sont également constants lors de la mesure.

2) Il n'y a pas plus de trois compartiments finis qui sont significatifs. Des modèles à quatre compartiments ou plus peuvent également ajuster le profil. Cependant, il n'est pas possible d'établir l'existence de ces compartiments supplémentaires en utilisant un seul traceur injecté dans un seul compartiment (Sheppard, 1962). En effet, à partir d'un profil diphasique, on ne peut tester une hypothèse impliquant quatre compartiments que s'il y a au moins deux compartiments marqués, ce qui n'est pas le cas des profils obtenus jusqu'ici.

3) La solution n'est pas cyclique. Cette restriction est amenée de façon à éliminer tous les systèmes qui présentent une composante d'oscillation dans leur solution. En plus de demander un traitement plus compliqué (la solution est fonction d'un nombre complexe), cette composante ne cause qu'une faible altération (l ou 2%) au profil diphasique (Sheppard, 1962).



FIGURE 6.1. Les trois transitions.

4) L'introduction et la perte de P d'un système ouvert sont présumés provenir d'un compartiment infini et se terminer dans un autre. Ainsi, le P ne s'échappe pas du réacteur même si le traceur suit l'équation d'un système ouvert. Un compartiment infini correspond à l'accumulation du traceur dans un compartiment réfractaire ou à une source de P non marquée.

La solution d'un système donné se simplifie en un système subalterne quand une ou plusieurs de ses constantes de transfert deviennent nulles ou très petites; elle devient plus complexe quand plusieurs systèmes partagent un compartiment commun. Au total, les transitions entre les différentes solutions peuvent se faire de trois façons: 1'élimination, l'approximation et la réduction (fig. 6.1). L'élimination d'un lien à partir du système 1.5 produit le type l ou 2. Mais il n'est pas possible d'aller directement du type 2 au type 1 de cette façon sans violer la prémisse de stabilité. 11 faut alors supposer un approximation, ce qui revient à dire que le profil de type l n'est qu'un cas limite du type 2 et qu'il n'y a pas de système correspondant au type 1 (Lean et Nalewajko, 1979). De la même façon, un système de type 3 peut approximer un profil l.5. L'approximation revient à prendre la limite de la solution lorsqu'une des constantes de transfert tend vers zéro et l'élimination lorsqu'elle est égale à zéro. La réduction consiste à passer au type 3 en combinant deux systèmes de type 2 pour obtenir un système mamillaire, ce qui équivaut à la compétition alguebactérie (Lean et White, 1983). Le principle of lumping (Sheppard, 1962) prédit alors que la solution est de type 3 en autant qu'il existe une grande différence entre les coefficients de transferts des deux compartiments périphériques (Sheppard, 1962; Jacquez, 1985).

L'ensemble des systèmes qui composent le modèle dépend donc du choix préalable d'un mécanisme de base et des transitions possibles à partir de celui-ci. En partant de l'hypothèse que la transition par approximation n'est pas valable, la solution la plus simple pour obtenir les quatre solutions est de prendre le profil 1.5 comme système de base:

 $1 \stackrel{E}{\longleftrightarrow} 1.5 \stackrel{E}{\longleftrightarrow} 2 \stackrel{R}{\longleftrightarrow} 3$

ou: E= Elimination

R= Réduction

Ce modèle diffère principalement de celui de Lean et Nalewajko (1979) en ce que les types l et l.5 ne sont pas considérés comme des cas spéciaux d'un profil fermé. Ils résultent plutôt d'un apport net de P au seston par l'intermédiaire du PO₄ et, de ce fait, expliquent le déséquilibre isotopique en faveur de la phase particulaire. Comme l'a fait Rigler (1974) avec son modèle fermé, il faut, pour le présent modèle, partager deux compartiments infinis (la source et le récepteur) ainsi qu'un compartiment fini entre les phases solubles et particulaires. Le PO₄ étant soluble, l'autre compartiment fini doit être particulaire pour justifier les profils monophasiques-fermés (type 2). Pour les compartiments infinis, le récepteur doit être dans la phase particulaire puisque le déséquilibre isotopique est toujours en faveur de celle-ci et la source, pour la même raison, doit être soluble (fig. 6.2). Il est maintenant possible d'examiner les mécanismes courants de la littérature avec ce modèle.



FIGURE 6.2. Arrangements pour un système ouvert à deux compartiments dont \vdots solution est le type l.5. ∞ , compartiment infini; α , algue; β , bactérie; \emptyset , microbe non specifié.

Le compartiment infini soluble représente une source de P dont l'origine est expliquée par deux hypothèses. Dans le premier cas, la source est un P organique dont la disponibilité à l'algue diminue au cours de la saison (Herbes <u>et al.</u>, 1975) pour ne représenter que moins de 1% du taux d'incorporation du PO₄ au cours de l'été (Heath, 1986; Auclair <u>et al.</u>, 1985). Si l'algue y puise une importante partie de son P en l'hydrolysant avec les phosphatases qui lui sont associées (Currie <u>et al.</u>, 1986; Auclair <u>et al.</u>, 1985), cette action n'a lieu qu'en début de saison.

Dans le second cas, l'apport en PO₄ provient de la décomposition bactérienne du phytoplancton. Etant donné que les taux de minéralisation sont de l'ordre d'au plus 0.05j-l (De Pinto <u>et al.</u>, 1986), le PO₄ qui en provient n'est pas marqué durant la brève incubation et agit donc comme la source du système ouvert. L'apport de P par ce mécanisme fournit une explication des <u>bloom</u> d'algues durant l'été qui autrement ne peut pas

toujours se justifier par l'accumulation de P intracellulaire en début de saison (Currie, 1986).

Selon l'identité accordée au deux autres compartiments, deux mécanismes sont au départ possibles pour produire un profil du type 1.5. L'arrangement 1.5a prédit que le PO₄ est assimilé en premier par la bactérie qui le relâche sous forme de P organique pour être totalement assimilé ensuite par l'algue (Currie et Kalff, 1984a, b). Dans ce cas, l'algue est le compartiment infini. Mais si la relâche du P organique par la bactérie se faisait dans le milieu, on devrait observer durant la période d'incubation l'apparition d'un P organique marqué et biodisponible. Lean (1973a, b) a montré l'existence de ce P dit "colloīdal" mais pas sa disponibilité et l'expérience subséquente de Lean et Rigler (1974) confirme qu'il ne cause pas le profil diphasique. Pareillement, Berman (1985) n'a pu mesurer un transfert de P³² de l'algue vers la bactérie. Pour ces raisons, j'estime que la contribution au profil apportée par ce mécanisme est faible.

Le second mécanisme est plus simple et plus probable. L'arrangement 1.5b place le compartiment infini à l'intérieur du microbe, représentant ainsi les réserves de P intracellulaire. Chez la bactérie, le PO₄ est d'abord rapidement incorporé sur la membrane pour être ensuite plus lentement assimilé dans les réserves (Medveczki et Rosenberg, 1971). L'algue a probablement un mécanisme similaire, mais moins sensible aux faibles concentrations de PO₄ (Rhee, 1972) de sorte que la bactérie contrôle la dynamique du PO₄ sauf dans les lacs non carencés en P.

6.2 Conclusion

Dans son ensemble, le modèle étendu associe l'accumulation nette de P dans le seston avec le type l (Lehman et Sandgren, 1982), la recirculation de P entre le seston et le milieu avec le type 2 (Lean, 1973a), et, avec le type 3 (Lean et White, 1983), la compétition entre l'algue et la bactérie pour le PO4 (Berman, 1985) . Le système de base (type 1.5), apparait losqu'il y a à la fois recirculation et accumulation. Pour les types 2 et 3, le PO4 est échangé en circuit fermé sans assimilation nette de P. Lean (1973a) a appellé ce comportement <u>Quixotic Behaviour</u> et Brassard et Auclair (1984a) proposent qu'il a lieu afin de transporter une source de C. Quel que soit le rôle du PO4, le type 3 indique que le seston est en compétition non pas pour l'assimiler, mais pour s'en servir et le retourner dans le milieu, ce qui indiquerait qu'il n'est pas nécessairement limitant dans ces conditions. Selon le modèle étendu, la contribution du PO4 à l'apport net en P devrait être importante seulement lorsque sont présents les profils Ceux-ci prédominent au printemps (Lean et Nalewajko, ouverts 1 et 1.5. 1979; Chow-Fraser et Duthie, 1983) et devraient aussi exister lors d'évènements sporadiques d'apport en PO4 (Reinertsen et al., 1986). 11 serait possible d'établir dans ce cas la fraction du P total assimilé qui provient du PO4 en faisant la sommation des flux de PO4 durant ces profils. La différence avec le P total devrait alors estimer le P organique disponible proposé par Currie (1986).

La difficultée à établir le rôle du PO4 en rapport avec la dynamique du P vient du fait qu'on a considéré le PO4 uniquement en fonction d'un P

total limitant la croissance algale. Le modèle étant présumé fermé, le PO₄ devenait <u>a priori</u> toujours indépendant de l'apport en P. Le modèle présenté ici propose que les profils d'incorporation ne sont pas toujours reliés à une limitation en P (Lean et Nalewajko, 1979), mais à une différence fonctionelle dans l'usage que le seston fait du PO₄.

REFERENCES

APHA. (1981).

Standard methods for the examination of water and wastewater, 50th edition. American Public Health Association, Washington, D.C.

AUCLAIR, J.C., BRASSARD, P. et P. COUTURE. (1985). Total dissolved phosphorus: Effect of two molecular weight fractions on phosphorus cycling in natural phytoplankton communities. Water Res. <u>19</u>(11):1447-1453.

AUCLAIR, J.C., DEMERS S., FRECHETTE M., LEGENDRE L., and TRUMP C.L. (1982). High frequency endogenous periodicities of chlorophyll synthesis in estuarine phytoplankton. Limnol. Oceanogr. <u>27</u>:384-352.

BARLOW, J.P., PETERSEN, B.J. et A.E. SAVAGE. (1973a). Continuous flow bioassay of phosphorus as a limiting nutrient for Cayuga lake phytoplankton. <u>in</u>: Proceedings of the 16th Conference of Great Lakes Research, pp. 7-14. International Association of Great lakes Research.

BARLOW, J.P., SCHAFFNER, W.R. et B.J. DENOYELLE-PETERSEN. (1973b). Continuous flow nutrient bioassays with natural phytoplankton population. <u>in</u>: Bioassays Techniques and Environmental Chemistry, G.E. Glass (eds) pp. 299-319. Ann Arbor Science, Ann Arbor, Mich.

BEEVER,R.E. et D.J.W. BURNS. (1977). Adaptative changes in phosphate uptake by the fungus <u>Neurospora</u> <u>crassa</u> in response to phosphate supply. J. Bacteriol. <u>132</u>: 520-525.

BERMAN, T. (1985). Uptake of ³²P-orthophosphate by algae and bacteria in lake Kinneret. J. Plankton Res. 7:71-84.

BERMAN, T. et G.W. SKYRING. (1979). Phosphorus cycling in aquatic microorganisms studied by phased uptake of 33p and 32p. Current Microbiology 2:47-49.

BRASSARD, P. et J.C. AUCLAIR. (1984a). Orthophosphate uptake rate constants are mediated by the 10³ - 10⁴ molecular weight fraction in shield lake waters. Can. J. Fish Aquat. Sci. <u>41</u>(1):166-173.

BRASSARD, P. et J.C. AUCLAIR. (1984b).

A rapid method for separating phosphorus compounds by molecular weight using exclusion gels and centrifugation. Water Res. <u>18(9):1181-1183</u>. BUFFLE, J., DELADOEY, P. et W. HAERDI. (1978).

The use of ultrafiltration for the separation and fractionation of organic ligands in fresh waters. Anal. Chim. Acta. <u>101</u>: 339-357.

BUFFLE, J. et P. DELADOEY. (1982).

Analysis and characterisation of natural organic matters in fresh waters. II: Comparaison of the properties of waters of various origins and their annual trenel. Schweiz. Z. Hydrol. 44(2): 363-391.

- BUFFLE, J., DELADOEY, P., ZUMSTEIN, J. et W. HAERDI. (1982). Analysis and characterisation of natural organic matters in fresh waters. I: Study of analytical techniques. Schweiz. Z. Hydrol. <u>44</u>(2): 325-362.
- BURNS, D.J.W. et R.E. BEEVER, (1979). Mechanism controlling the two phosphate uptake system in <u>Neurospora</u> <u>crassa</u>. J. Bacteriol. <u>139</u>: 195-204.

CEMBELLA, A.D., ANTIA, N.J. et P.J. HARRISON. (1984a).

The utilisation of inorganic and organic phosphorus compounds as nutrients by eukariotic microalgae: A multidisciplinary perspective. 1. CRC Critical Review on Microbiology <u>10</u>(4):317-391.

CEMBELLA, A.D., ANTIA, N.J. et P.J. HARRISON. (1984b). The utilisation of inorganic and organic phosphorus compounds as nutrients by eukariotic microalgae: A multidisciplinary perspective. 2. CRC Critical Review on Microbiology <u>11</u>(1):13-81.

- CHAMBERLAIN, W.N. (1968). A preliminary investigation of the nature and importance of soluble organic phosphorus in the phosphorus cycle of lakes. Ph.D. Thesis Univ. of Toronto, 232 p.
- CHENG, K.J., INGRAN, J.M. et J.W. COSTERTON. (1970). Alkaline phosphatase localization and spheroplast formation of <u>Pseudomonas aeruginosce</u>. Can. J. Microbiol. <u>16</u>: 1319-1324.

CHISHOLM, S.W. et R.G.STROSS, (1976).

Phosphate uptake kinetics in <u>Euglena gracilis</u>(Z) (Euglenophycaea) grown in light/dark cycles. II: Phased PO limited cultures. J. Phycol. <u>12</u>: 217-222.

CHOW-FRASER, P. et H.C. DUTHIE.(1983). Assessment of phosphorus limitation in an oligotrophic lake using radiophosphorus uptake kinetics. Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>40</u>: 817-821.

COLLIENNE, R.H. (1983). Photoreduction of iron in the epilimnion of acidic lakes. Limnol. Oceanogr. <u>28</u>:83-100.

CURRIE, D.J. (1986).

Does orthophosphate uptake supply sufficient phosphorus to phytoplancton to sustain their growth? Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>43</u>:1482-1487.

CURRIE, D.J., BENTZEN, E., et J. KALFF. (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. <u>43</u>:311-318.

CURRIE, D.J. et J. KALFF. (1984a).

A comparison of the abilities of freshwater algae and bacteria to acquire and retain phosphorus. Limnol. Oceanogr. <u>29</u>(2): 298-310.

CURRIE, D.J. et J. KALFF. (1984b).

The relative importance of bacterioplankton and phytoplankton in phos phorus uptake in freshwater. Limnol. Oceanogr. <u>29</u>(2): 311-321.

DENOYELLES, F., KNOECHEL, R., PRINKE, D., TREANOR, D. et C. ALTERHOFEN. (1980). Continuous culturing of natural phytoplankton communities in the expe rimental lakes area: effects of enclosure, in situ incubation, light, phosphorus and cadmium. Can. J. Aquat. Sci. 37: 424-433.

DE PINTO. J.V., YOUNG, T.C., BONNER, J.S., et P.W. RODGERS. (1986) Microbial recycling of phytoplancton phosphorus. Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>43</u>:336-342.

DICKSON, W. (1978). Some effects of the acidification of swedish lakes. Verh. Int. Ver. Limnol. <u>20</u>: 851-856.

DILLON, P.J., RIGLER, F.H. (1974). The phosphorus-chlorophyll relationship in lakes. Limnology and Oceanography, <u>19</u>: 767-773.

DOWNES, M.T., et H.W. PAERL. (1978). Separation of two dissolved phosphorus fractions in lakewater. J. Fish. Res. Bd Can. <u>35</u>:1636-1639

FITZGERALD, G.P. et T.E. NELSON. (1966). Extractive and enzymatic analyses for limiting or surplus phosphorus in algae. J. Phycol. <u>2</u>: 32-37.

FRANCKO, D.A. et R.T. HEATH. (1979). Functionally distinct classes of complex phosphorus compounds in lake waters. Limnol. Oceanogr. <u>24</u>(3): 463-473. FRANCKO, D.A. et R.T. HEATH. (1982).

UV-sensitive complex phosphorus: Association with humic material and iron in a bog lake. Limnol. Oceanogr. <u>27</u>:564-569.

FRANCKO, D.A. et R.T. HEATH. (1983).

Abiotic uptake and photodependent release of phosphate from high molecular weight humic-iron complexes in bag lakes. <u>In</u>: Aquatic and terrestrial humic materials, Christman, R.F. and Gjessing, E.T. (eds.). Ann Arbor Science Publish. Ann Arbor, Mich.

GOTHAM, I.J. et G.Y. RHEE. (1981). Comparative kinetic studies of phosphate-limited growth and phosphate uptake in phytoplankton in continuous cultures. J. Phycol. <u>17</u>: 257-265.

HARRIS, G.P. et B.B PICCININ. (1977). Photosynthesis of natural phytoplankton populations. Arch. Hydrobiol. <u>80</u>:405-457.

HARRIS, G.P. (1980). Temporal and spatial scales in phytoplankton ecology. Mechanism, method, models and management. Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>37</u>: 877-900.

HEATH, R.T. (1986). Dissolved organic phosphorus compounds: Do they satisfy planktonic phosphate demand in summer? Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>43</u>:340-350.

HERBES, S.E., ALLEN, H.E. et K.H. MANCY. (1975).

Enzymatic characterisation of soluble organic phosphorus in lake water. Science, <u>187</u>: 432-434.

JACKSON, A.T. et D.W. SCHINDLER. (1975). The biogeochemistry of phosphorus in an experimental lake environment: evidence for the formation of humic metal complexes. Verh. Int. Verh. Limnol. <u>19</u>: 211-221.

JACKSON, T.A. et R.E. HECKY. (1980).

Depression of primary productivity by humic matter in lake and reservoir waters of the boreal forest zone. Can. J. Aquat. Sci. 37: 2300-2317.

JACQUEZ, J.A. (1985). Compartmental analysis in biology and medicine. 2nd ed. Ann Arbor: University of Michigan Press. Page 507.

JANSSON, M. (1981). Induction of high phosphatase activity by Al in acid lakes. Arch. Hydrobiol. 93(1): 32-44. JANSSON, M., OLSSON H., et O. BROBREG. (1981).

Characterisation of acid phosphatase in the acidified lake Gardsjon, Sweden. Arch. Hydrobiol. <u>92</u>:377-395.

- KABACK, R.R. (1970). Transport. Ann. Rev. Biochem. 39: 561-598.
- KALFF, J. et KNOECHEL. (1978). Phytoplankton and their dynamics in oligotrophic and eutrophic lakes. Ann. Rev. Ecol. Syst. <u>9</u>: 475-495.
- KULAEV, I.S. et V.M. VAGABOV.(1983). Polyphosphate metabolism in microorganisms. Arch. Microb. Physiol. <u>24</u>: 83-171.
- LEAN, D.R.S. (1973a). Movement of phosphorus between its biologically important forms in lake waters. J. Fish. Res. Board Can. <u>30</u>(10): 1525-1536.
- LEAN, D.R.S. (1973b). Phosphorus dynamics in lakewaters. Science. <u>179</u>: 678-680.
- LEAN, D.R.S. et C. NALEWAJKO. (1976). Phosphate exchange and organic phosphorus extraction by freshwater algae. J. Fish. Res. Board Can. <u>33</u>: 1312-1323.
- LEAN, D.R.S. et C. NALEWAJKO. (1979). Phosphorus turnover time and phosphorus demand in large and small lakes. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. <u>13</u>: 120-132.
- LEAN, D.R.S. et F.H. RIGLER. (1974). A test on the hypothesis that abiotic phosphate complexing influences phosphorus kinetics in epilimnetic lake water. Limnol. Oceanogr. <u>19</u>(5): 784-788.
- LEAN, D.R.S. et E. WHITE. (1983). Chemical and radiotracer measurements of phosphorus uptake by lake plankton. Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>40</u>(2): 147-155.
- LEHMAN, J.T. et C.D. SANDGREN. (1982). Phosphorus dynamics of the procaryotic nannoplankton in a Michigan Lake. Limnol. Oceanogr. <u>27</u>(5): 828-838.

LEVINE, S.N. (1976). A preliminary investigation of orthophosphate concentration and the uptake of orthophosphate by seston in two Canadian Shield Lakes. M.Sc. thesis, Univ. Manitoba, Winnipeg, Man. 151p. LEVINE, S.N. et D.W. SCHINDLER. (1980).

Radiochemical analysis of orthophosphate concentration and seasonal changes in the flux of orthophosphate to seston in two canadian shield lakes. Can. J. Fish and Aquat. Sci. 37(3): 479-487.

LI, W.K.W., et J.C. GOLDMAN. (1981).

Problems in estimating growth rates of marine phytoplankton from short term 14C assays. Microbiol. Ecol. <u>7</u>:113-121.

MACALISTER, T.J., IRVIN, R.T. et J.W. COSTERTON. (1977). Cell surface localised alkaline phosphatase of <u>Escherichia coli</u> as visualized by reaction product deposition and ferrition labelled antibodies. J. Bacteriol. 130: 318-325.

MATAGNE, R.F., LOPPES, R. et R. DELTOUR. (1976). Phosphatase of <u>Chlamydomonas reinhardi</u>: biochemical and cytochemical approach with specific mutants. J. Bacteriol. <u>126</u>: 937-950.

MEDVECZKY, N. et H. ROSENBERG. (1971). Phosphate transport in <u>Escherichia coli</u>. Biochim. Biophys. Acta. <u>241</u>(2): 494-506.

NALEWAJKO, C. et D.R.S. LEAN. (1978). Phosphorus kinetics - algal growth relationship in batch cultures. Mitt. Int. Ver. Limnol. <u>21</u>: 184-192.

NYHOLM, N. (1977). Kinetics of phosphate limited growth. Biotechnol. Bioeng. <u>19</u>: 467-492.

OUELLET, M. et H.G. JONES. (1983). Paleolimnological evidence for the long-range atmospheric transport of acidic pollutants and heavy metals into the province of Québec, Eastern Canada. Can. J. Earth Sci. <u>20</u>: 23-36.

PAERL, H.W. et M.T. DOWNES. (1978). Biological availability of low versus high molecular weight reactive phosphorus. J. Fish. Res. Board Can. <u>35(2)</u>: 1639-1643.

PERRY, M.J. (1976). Phosphate utilisation by an Ocean diatom in phosphorus limited chemostat culture in the oligotrophic waters of the central North Pacific. Limnol. Oceanogr. 21(1): 88-107.

PERRY, M.J. et R.W. EPPLEY. (1981). Phosphate uptake by phytoplankton in the central North Pacific Ocean. Deep-Sea Res. <u>28</u>: 39-50. PETERS, R.H. (1978).

Concentrations and kinetics of phosphorus fractions in water from streams entering lake Memphremagog. J. Fish Res. Board Can. 35:315-328.

PETERS, R.H. (1979).

Concentration and kinetics of phosphorus fractions along the trophic gradient of lake Memphremagog. J. Fish. Res. Board Can. <u>36</u>: 970-979.

PETERS, R.H. (1981).

Phosphorus availability in lake Memphremagog and its tributaries. Limnol. Oceanogr. <u>26</u>: 1150-1161.

PETTERSSON, K. (1980).

Alkaline phosphatase activity and algal surplus phosphorus as phosphorus-deficiency indicators in lake Erken. Arch. Hydrobiol. $\underline{89}(1/2)$:54-87.

REINERTSEN, H., JENSEN, A., LANGELAND, A. et Y. OLSON. (1986).

Algal competition for phosphorus: The influence of zooplankton and fish. Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>43</u>:1135-1141.

RHEE, G.Y. (1972). Competition between an algae and an aquatic bacterium for phosphate. Limnol. Oceanogr. <u>17</u>(4): 505-513.

RHEE, G.Y. (1973). A continuous culture study of phosphate uptake, growth rate and poly phosphate in <u>Scenedesmus</u> sp. J. Phycol. <u>9</u>: 495-506.

RIGGS, D.S. (1963). The mathematical approach to physiological problems. William and Wilkins Co., Baltimore, Maryland 21202, The M.I.T. Press.

RIGLER, F.H. (1956). A tracer study of the phosphorus cycle in lake water. Ecology <u>37</u>:550-562.

RIGLER, F.H. (1966). Radiobiological analysis of inorganic phosphorus in lakewater. Verh.Int. Verein. Limnol. <u>16</u>: 465-470.

RIGLER, F.H. (1968).

Further observations inconsistent with the hypothesis that the molybdenum blue method measures orthophosphate in lakewater. Limnol. Oceanogr. <u>13</u>:7-13

RIGLER, F.H. (1974).

A dynamic view of the phosphorus cycle in lakes. <u>In</u>: E.J. Griffiths <u>et al</u>. (eds.), Environmental Phosphorus Handbook, 539-572. Wiley and Sons, N.Y. ROSENBERG, H., GERDES, R.G. et K. CHEGWIDDEN. (1977). Two systems for the uptake of phosphate in <u>Escherichia coli</u>. J. Bacteriol. <u>131</u>: 505-511.

RUBIN, P.M., ZETOONEY, E. et R.E. MCGOWAN. (1977). Uptake and utilization of sugar phosphates by <u>Anabaena</u> <u>flos-aquae</u>. Plant Physiol. <u>60</u>:407.

SAIER, M.H. (1982). The bacterial phosphotransferase system in regulation of carbonhydrate permease synthesis and activity. <u>In</u>: A.N. Martonosi (eds.). Membranes and Transport, pp. 27-32. Plenum.

SHEPPARD, C.W. (1962).
Basic principles of the tracer method introduction to mathematical
tracer kinetics. New York: John Wiley & Sons.

SMITH, R.E. et J. KALFF. (1981). The effect of phosphorus limitation on algal growth rates: evidence from alkaline phosphatase. Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>38</u>: 1421-1427.

SNEDECOR, G.W. et COCHRAN, W.G. (1967). Statistical methods, 6th edition. Iowa State University Press, Ames, IA.

STAINTON, M.P. (1980). Errors in molybdenum blue methods for determining orthophosphate in freshwater. Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>37</u>:472-478.

STEWART, A.J. et G. WETZEL. (1981). Dissolved humic materials: photodegradation sediment effects and reactivity with phosphate and calcium carbonate precipitation. Arch. Hydrobiol. <u>92</u>(3): 265-286.

STEWART, A.J. et R.G. WETZEL. (1982). Influence of disolved humic material assimilation and alkaline phosphatase activity in natural algal-bacterial assemblages. Fresh. Biol. <u>12</u>: 369-380.

STEWART, A.J. (1984).

Interactions between dissolved humic materials and organic toxicants. <u>In</u>: Synthetic fossil fuel technologies. K.E. Cowsen and C.R. Richmond (eds.) Butterworth. Stoneham, MA, 505-521 p.

STRICKLAND, J.D.H. et T.R. PARSONS. (1972).
 A practical handbook of seawater analysis. Bull. Fish. Res. Board
 Can. <u>167</u>: 311.

STUMM, W. et J.J. MORGAN. (1981). Aquatic chemistry. John Wiley and Sons. TAFT, J.L., LOFTUS, M.E. et W.R. TAYLOR. (1977).

Phosphate uptake from phosphomonoesters by phytoplankton in the chesapeake bay. Limnol. Oceanogr. <u>22</u>(6): 1012-1021.

TILMAN, D. et S.S. KILHAM. (1976).

and have

Phosphate and silicate growth and uptake kinetics of the diatoms <u>Asterionella formosa</u> and <u>Cyclotella meneghiniana</u> in batch and semi-continuous culture. J. Phycol. <u>12</u>: 375-383.

WHITE, E., PAYNE, G., PICKMERE, S. et F.R. PICK. (1981). Orthophosphate and its flux in lake waters. Can. J. Fish. Aquat. Sci. <u>38</u>: 1215-1219.

WHITE, E. et G. PAYNE. (1980).

Distribution and biological availability of reactive high molecular weight phosphorus in natural waters in New Zealand. Can. J. Fish Aquat. Sci. <u>37</u>: 664-669.

